

**Analyse des Infektionsverlaufes bei
Ornithodoros moubata (Murray)
und der natürlichen Übertragung von
Spirochaeta duttoni**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

Willy Burgdorfer

aus Basel

Basel 1951

VERLAG FÜR RECHT UND GESELLSCHAFT AG. BASEL

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen
Fakultät auf Antrag der Herren Professoren R. Geigy und A. Port-
mann.

Basel, den 26. Juni 1951.

A. Ostrowski,
Dekan.



Separatabdruck aus Acta Tropica, Bd. VIII, Heft 3, 1951.

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG	194
1. <i>Vorbemerkung</i>	194
2. <i>Material und Technik</i>	194
3. <i>Beschreibung der wichtigsten inneren Organe von Ornithodoros moubata</i>	198
4. <i>Ueberblick über die Befunde anderer Autoren</i>	202
a) Ansichten über die Entwicklung der Spirochaeten in der Zecke	202
b) Ansichten über das Verhalten der Zeckenorgane gegenüber <i>Borrelia duttonii</i>	204
II. ANALYSE DES INFEKTIONSVERLAUFES IN DER ZECKE	208
A. Befall der Zeckenorgane durch <i>Spirochaeta duttonii</i>	208
1. <i>Das Verhalten der Spirochaeten im Magensack</i>	208
2. <i>Die Bedeutung der Haemolympe für den Infektionsverlauf</i>	211
a) Das zeitliche Auftreten der Spirochaeten in der Haemolympe	211
b) Das Verhalten von <i>Borrelia duttonii</i> in der Haemolympe	215
3. <i>Das Eindringen der Spirochaeten in verschiedene Organe</i>	219
a) Befall der Speicheldrüsen	221
b) Befall der Coxalorgane	226
c) Die Infektion der Malpighischen Gefäße	228
d) Spirochaeten im Centralganglion	232
e) Befall der Zeckeneier	233
B. Experimentelle Untersuchung über die Organ-Affinität und Temperaturabhängigkeit von <i>Borrelia duttonii</i>	236
1. <i>Das Verhalten von Borrelia duttonii gegenüber verschiedenen Zeckenorganen (Glaskapillarentest)</i>	236
2. <i>Temperaturabhängigkeit von Borrelia duttonii</i>	240
III. DIE VERSCHIEDENEN MÖGLICHKEITEN DER ÜBERTRAGUNG VON SPIROCHAETEN DURCH ORNITHODORUS MOUBATA	241
A. Die Uebertragung durch die Exkrete der Malpighischen Gefäße	241
B. Die Uebertragung durch das Sekret der Speicheldrüsen	242
C. Die Uebertragung durch die Coxalflüssigkeit	248
IV. ZUSAMMENFASSUNG	255
Literaturverzeichnis	257

I. EINLEITUNG

1. Vorbemerkung.

Wie später im einzelnen noch dargelegt werden soll, hat sich bereits eine große Zahl von Autoren mit dem Problem des Infektionsverlaufes von *Spirochaeta duttoni*¹ in der Zecke *Ornithodoros moubata* befaßt und auch den Uebertragungsmodus untersucht. Bis heute ist es jedoch noch nicht zu einer umfassenden Theorie und zu einer befriedigenden Abklärung aller Einzelheiten gekommen.

Es schien deshalb angezeigt, den ganzen Fragenkomplex noch einmal aufzugreifen und auf Grund einer eingehenden Beschreibung der Zeckenanatomie die einzelnen Etappen des Spirochaetenschicksals im Zeckenkörper zu verfolgen. Dabei sollte auch allfälligen Verschiedenheiten der beobachtbaren Vorgänge, je nach dem Entwicklungsstadium der untersuchten Zecken, ein besonderes Augenmerk geschenkt werden.

Auf Grund der erzielten Resultate sollte auch versucht werden, ein klares Bild zu bekommen über die Rolle, welche verschiedenen Zeckenorganen bei der Uebertragung von *Spirochaeta duttoni* auf den Warmblüter zukommt.

Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. O. JIROVEC (Prag), Prof. Dr. FR. ROULET (Basel) und Dr. G. E. DAVIS (Hamilton, USA.) für die Zusendung von Zecken- und Spirochaetenmaterial zu danken. Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung meines geehrten Lehrers, Prof. Dr. R. GEIGY, am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel ausgeführt. Ihm spreche ich für seine Anregungen wie auch für sein Interesse, das er stets meinen Untersuchungen entgegengebracht hat, meinen herzlichsten Dank aus. Ferner bin ich Frl. S. BAUER und Frl. M. STEHELIN für die Mithilfe bei der Ausarbeitung der Zeichnungen zu Dank verpflichtet.

2. Material und Technik.

Die für die Untersuchungen benötigten *Ornithodoros moubata* Zecken (vgl. Abb. 1) stammten aus einer Zucht des Schweizerischen Tropeninstitutes in Basel. Aufgebaut wurde diese einerseits mit Zecken, welche 1945 von Prof. GEIGY an verschiedenen Orten im Belgischen Kongo gesammelt worden waren, andererseits mit sol-

¹ Obschon bei strikter Anwendung der Nomenklaturregeln die Rückfallfieberspirochaeten die Bezeichnung «*Treponema duttonii*» erhalten sollten, wurde in dieser Publikation an den gut eingebürgerten Synonyma «*Spirochaeta duttoni*» und «*Borrelia duttonii*» festgehalten.

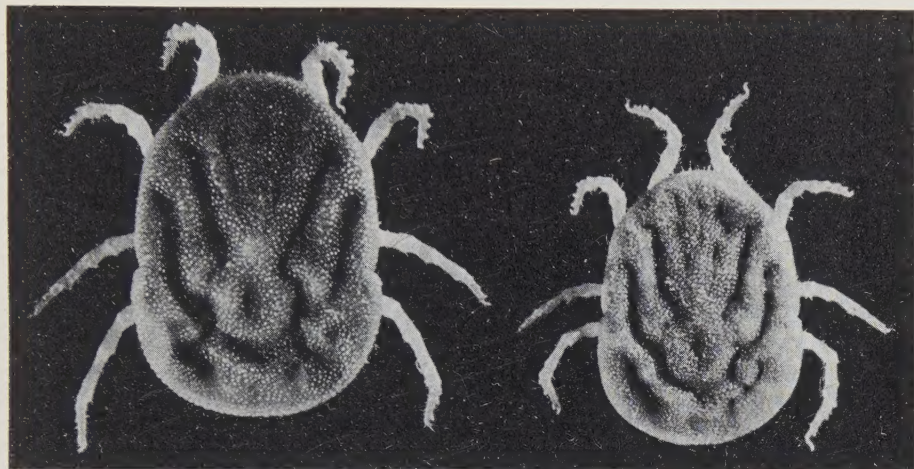


Abb. 1. *Ornithodoros moubata*. Weibchen und Männchen. Dorsalansicht. Vergrößerung 6fach.

chen, die uns in liebenswürdiger Weise von Prof. JÍROVEC zur Verfügung gestellt worden sind.

Die Tiere beiderlei Herkunft wurden, ehe sie für die Zucht Verwendung fanden, auf ihre Reinheit geprüft.

In der ersten Zeit wurde ein Spirochaetenstamm aus Nairobi verwendet, der von Prof. ROULET aus Dakar mitgebracht worden war. Später konnten dann aus Zecken, die Prof. GEIGY 1949 in verschiedenen von Rückfallfieber heimgesuchten Eingeborenen-siedlungen Tanganyikas gesammelt hatte, mehrere nach Fundort gesonderte Spirochaetenstämme isoliert werden² (vgl. Seite 248).

Durch intramuskuläre Injektion von Organsuspensionen infizierter Zecken wurden die verschiedenen Erregerstämme auf weiße Mäuse übertragen. Nach durchschnittlich 4—5 Tagen befallen die Spirochaeten den peripheren Blutkreislauf dieser Laboratoriumstiere und können nun entweder durch 3tägige Mäusepassagen weitergezüchtet oder aber auf eine größere Zahl aus der Zucht stammender Zecken übertragen werden.

Im stark infizierten Mäuseblut lassen sich die Erreger des afrikanischen Rückfallfiebers wie folgt charakterisieren: Sie sind durchschnittlich $22\ \mu$ lang, stark beweglich und oft in Querteilung begriffen. Diese ist an der meist in der Mitte des Spirochaetenkörpers auftretenden Einschnürung zu erkennen (vgl. Abb. 6, 10 und 17).

² Ueber das «Unterschiedliche Verhalten verschiedener Stämme von *Spirochaeta duttoni* in der weißen Maus» ist bereits schon von R. Geigy und W. Burgdorfer (1951) berichtet worden.

Unter Uebernahme der am *Rocky Mountain Laboratory* in Hamilton (USA.) entwickelten Zuchtmethode (COOLEY & KOHLS, 1948) werden die Zecken in mit Wattepfropfen verschlossenen Glastuben gehalten. In diesen befinden sich Fließpapierstreifen, welche den Zecken nicht nur als Unterlage dienen, sondern auch die von den Tieren zuweilen noch nach der Nahrungsaufnahme ausgeschiedenen analen Exkretstoffe oder Coxalflüssigkeit aufsaugen. Die Zuchtuben werden in Exsiccatoren aufbewahrt, in welchen durch heiß gesättigte Ammoniumchloridlösung eine hohe relative Luftfeuchtigkeit aufrechterhalten wird. Hygroskopische Messungen haben ergeben, daß sich in den geschlossenen Exsiccatoren wie auch in den eigentlichen Zeckentuben nach 1—2 Stunden eine konstante relative Luftfeuchtigkeit von 75—85% einstellt. Diese Methode erwies sich gegenüber dem Halten in natürlichem Sand vor allem dadurch überlegen, daß die Zecken jederzeit beobachtbar waren und daß deren Eier nicht austrockneten.

Wie später im experimentellen Teil gezeigt werden soll, verläuft die Spirochaetenentwicklung in den Zecken je nach Temperaturbedingungen verschieden. Aus diesem Grunde wurden die Tiere in einem Brutschrank von 30° C gehalten, eine Temperatur, die sich sowohl für die Entwicklung von *Ornithodoros moubata* als auch für den Verlauf des Infektionsgeschehens von *Borrelia duttonii* als günstig erwiesen hat.

Zur Zeckenfütterung dienten neugeborene Ratten oder, wie Abb. 2 zeigt, weiße Mäuse, die auf dem Rücken liegend mit Klebstreifen fixiert sind und deren Bauchseite kurzgeschoren wird³.

Um die Uebertragungsversuche unter möglichst konstanten Bedingungen durchzuführen, sind die Zecken stets nur an solchen Mäusen infiziert worden, denen einige Tage vorher mittels Aufschwemmungen infizierter Zecken ein bestimmter Spirochaetenstamm eingepflanzt worden war. Wurden nun so infizierte Tiere zum Studium des Uebertragungsmodus wieder auf Mäuse gebracht, so erhielten dieselben auf jeden Fall Spirochaetenmaterial, das nicht durch lange Mäusepassagen an den Warmblüter adaptiert war. Diese Bedingungen entsprechen am ehesten dem natürlichen Uebertragungsvorgang des afrikanischen Rückfallfiebers.

Zur Abklärung des Infektionsverlaufes im Ueberträger *Ornithodoros moubata* wurden über 1300 Zecken seziiert und mikroskopisch verarbeitet. Weitere 1400 Zecken dienten ausschließlich zu Uebertragungsversuchen.

Für den Nachweis der Spirochaeten in den Zeckenorganen standen folgende Möglichkeiten zur Verfügung:

³ Zu empfehlen: A-2 small animal electric clipper, J. Oster Manufacturing Co., Racine, Wis. (USA.).

1. *Mikroskopischer Nachweis* mit einem Zeißschen Dunkelfeldmikroskop (945fache und 1350fache Vergrößerung). Die herauspräparierten auszutestenden Organe wurden, bevor sie im Quetschpräparat betrachtet werden konnten, in einer 2%igen Natriumcitratlösung mehrmals gewaschen, um sie von äußerlich anhaftenden, aus der Haemolymphe stammenden Spirochaeten zu reinigen.

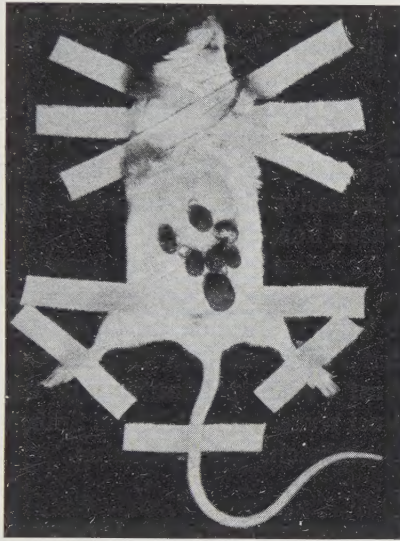


Abb. 2. Fütterung der Zecken an fixierten weißen Mäusen.

2. *Histologischer Nachweis*. Im Verlaufe der Untersuchungen zeigte es sich, daß mit Giemsa gefärbte Schnittpräparate keine guten Resultate gaben, da sich die Spirochaeten nur ungenügend oder überhaupt nicht anfärbten. Brauchbarer war die Versilberungsmethode nach LEVADITI, obwohl sich auch da die Erreger in den Zeckenorganen nicht immer befriedigend darstellen ließen. Die günstigsten Resultate lieferten die nach Giemsa-Romanowsky gefärbten Organausstrichpräparate, doch hatte die Herstellungsart häufig atypische Deformationen der Spirochaeten zur Folge. Deshalb wurde in der Regel auf die Herstellung histologischer Dauerpräparate verzichtet. Es konnte eine raschere und zuverlässigere Nachweismethode ausgearbeitet werden, die erlaubte, die Lebendbeobachtung im Dunkelfeld photographisch festzuhalten. Zu diesem Zweck mußten die Spirochaeten jedoch vorerst immobilisiert werden. Durch Zufall bin ich darauf gekommen, daß sich dazu das für Trypanosomen gebräuchliche Färbemittel *Tedanblau*, in stark verdünnter Lösung, am besten eignet.

Für die morphologische Beurteilung der Erregerformen waren auch Längenmessungen nötig. Diese wurden an lebenden, immobilisierten Spirochaeten vorgenommen, und zwar im Dunkelfeldmikroskop (945fache Vergrößerung), in dessen Okular eine geeichte Meßskala eingebaut worden war. Letztere wies 100 je $1,3 \mu$ lange Abschnitte auf.

Die Untersuchung der infizierten Körperflüssigkeit der Zecken erforderte eine besondere Technik, die dem eigentlichen Kapitel vorausgenommen und an dieser Stelle kurz beschrieben werden soll.

Zur Gewinnung der auszutestenden Zeckenhaemolymphe wird den Versuchstieren mittels feiner Pinzetten jeweils ein Tarsenglied coupiert, worauf die Flüssigkeit reichlich auszufließen beginnt. Diese muß sofort zu einem Nativpräparat verarbeitet werden, ansonst sie unter Luftzutritt rasch koaguliert.

Um sich eine Vorstellung über den jeweiligen Infektionsgrad machen zu können, wurde die Zeckenhaemolymphe während einer Zeiteinheit von 15 bzw. 5 Minuten im Dunkelfeld (945fache Vergrößerung) auf den zahlenmäßigen Gehalt von Spirochaeten geprüft. Jedes Präparat wurde 15 Minuten lang untersucht, bevor es als negativ bezeichnet wurde; fand sich ein Spirochaet, so verkürzte man die Zeit der Durchsicht auf 5 Minuten.

3. Beschreibung der wichtigsten inneren Organe von *Ornithodoros moubata*.

Trotz den zahlreichen Arbeiten über die Bedeutung von *Ornithodoros moubata* als Ueberträger des Rückfallfiebers findet sich in keiner derselben eine vollständige Beschreibung und nirgends eine bildliche Darstellung der Anatomie dieser afrikanischen Zeckenart. Es liegen lediglich, wie noch erwähnt werden soll, einige anatomisch-histologische Untersuchungen über die Coxalorgane, die Kopfdrüsen und das Ovar vor, speziell von BONÉ (1943), LEES (1946) und LEES & BEAMENT (1948), bei denen auch wertvolle Erörterungen über die Funktion des Coxalorgans (BONÉ, LEES) und der Kopfdrüsen (LEES & BEAMENT) zu finden sind.

Zum besseren Verständnis der späteren Ausführungen soll deshalb zunächst unter Berücksichtigung der obgenannten Autoren der Situs der wichtigsten Zeckenorgane geschildert und auf deren Funktion eingegangen werden (vgl. Abb. 3).

Entfernt man sorgfältig die Dorsaldecke einer hungernden Zecke, so tritt vorerst der *Magensack* (Ms) in Erscheinung. Dieser besteht aus einem zentralen Raum, um welchen sternförmig Blindsäcke angeordnet sind; man unterscheidet einen medianen vorde-

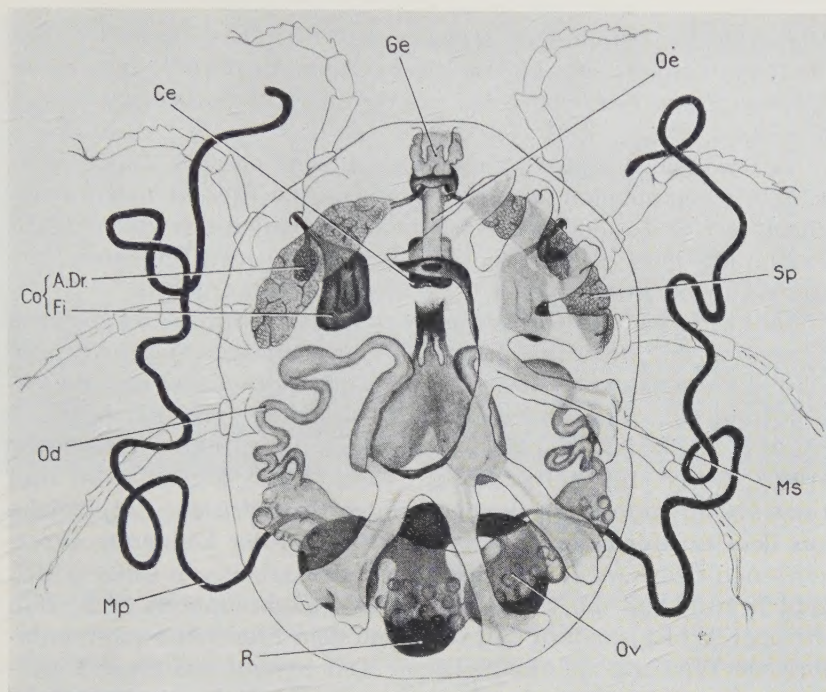


Abb. 3. Schematisch vereinfachter Situs von *Ornithodoros moubata* (Weibchen).

ren von 4 seitlichen Divertikeln, die sich in ihrem Verlauf früher oder später wieder in Lappen aufspalten. Histologisch bildet der wichtigste Teil des Magensacks das auf einer dünnen Basalmembran aufliegende Epithel, dessen zylindrische Zellen je nach dem physiologischen Zustand des Tieres in bezug auf Form und Größe variieren können. Je mehr Blut aufgenommen wird, desto größer werden die Epithelzellen. An der Außenseite der Magenwand befindet sich ein aus Längs- und Ringmuskeln zusammengesetztes Muskelsystem.

Während des 10—30 Minuten dauernden Saugaktes nimmt *Ornithodoros moubata* das 6—7fache seines Eigengewichtes an Blut auf (BONÉ [1943]). Der prall angefüllte Magensack dehnt sich dann fast über das ganze Körperlumen aus und überdeckt in der Dorsalansicht alle übrigen Organe. Im Gegensatz zu anderen Zecken besteht bei *Ornithodoros moubata* zwischen dem Magensack, der den eigentlichen Mitteldarm darstellt, und dem Enddarm keine Verbindung. Der Enddarm ist als blind endende *Rectalampulle* (R) vorhanden, die im hinteren Körperteil der Zecke gelegen ist und in den After ausmündet. Daß es sich dabei um den eigentlichen Enddarm handelt, geht daraus hervor, daß je ein rechtes und linkes

Malpighisches Gefäß (Mp) in zwei entsprechende seitliche Taschen der Rectalampulle einmünden. Dieses Organ dient somit ausschließlich der Exkretion, wobei der After zum Exkretionsporus geworden ist.

Der weibliche Genitalapparat besteht aus der mit 2 akzessorischen Drüsen unbekannter Funktion versehenen *Vagina*, dem zweihörnigen *Uterus* und den beidseitig verlaufenden *Ovidukten* (Od), welche aus dem im hinteren Körperteil gelegenen unpaaren, girlandenförmig angeordneten *Ovarium* (Ov) hervorgehen.

Im Vorderteil des Körpers münden in das ventralwärts gelegene Capitulum die Ausführungsgänge der großen, acinösen *Speicheldrüsen* (Sp). Zwischen diesen liegt das *Centralganglion* (Ce) der Bauchwand eng an. Ventral der Speicheldrüsen erkennt man beidseits die von mehreren Autoren (CHRISTOPHERS [1906], KÜNSSBERG [1911], REMY [1922], PATTON & EVANS [1929], BONÉ [1943] und LEES [1946]) untersuchten sogenannten *Coxaldrüsen* (Co), welche aus dem sackförmigen *Filterorgan* (Fi) und der kleineren *Akzessorischen Drüse* (A. Dr.) bestehen. Aus der Arbeit von LEES (1946) geht hervor, daß die Funktion dieses Organkomplexes nicht rein drüsiger Art ist, sondern daß vor allem dem Filterteil osmo-regulatorische Wirkung zukommt. Dieser Teil besteht aus einer Filterkammer, welche durch eine dünne Membran mit dem mehrfach gewundenen, kompakten, nach außen führenden Kanalsystem in Verbindung steht. Am Ende dieses Kanalsystemes mündet der kurze Exkretionsgang der viel kleineren acinösen akzessorischen Drüse ein, über deren Funktion noch keine Klarheit herrscht.

Wir erachten es als richtig, künftig nicht mehr von einer Coxaldrüse, sondern von einem *Coxalorgan* zu sprechen, bestehend aus Filterorgan und akzessorischer Drüse.

Der Vollständigkeit halber seien auch noch die Kopfdrüsen oder *Genesch'schen Organe* (Ge) erwähnt, deren Sekrete die Eier während der Ablage mit einer vor Austrocknung schützenden Wachs-schicht umgeben. Alle diese Organe werden von der frei in der Leibeshöhle zirkulierenden *Haemolympe* umflossen.

Beschreiben wir nun kurz die inneren Vorgänge während eines Saugaktes. Das von der Zecke aufgenommene Blut gelangt via Pharynx und Oesophag in den Magensack. Kurz vor Ende des Saugaktes wird beiderseits aus der zwischen den ersten Beinpaaren gelegenen Oeffnung des Coxalorgans eine wasserklare Flüssigkeit, die sog. Coxalflüssigkeit, ausgestoßen (vgl. Abb. 2 und 4).

Gestützt auf die Beobachtungen von BONÉ (1943) und LEES (1946), sowie auf Grund eigener Ueberlegungen, muß man sich den Zusammenhang zwischen Funktion des Coxalorganes und des Blutsaugaktes folgendermaßen vorstellen: Die Zecke nimmt be-



Abb. 4. Zwei Ornithodori von der Dorsal- bzw. Ventralseite während der Abgabe der Coxalflüssigkeit. Vergrößerung 7fach.

kanntlich nur selten Blutnahrung zu sich (Zuchtzecken müssen 3—4mal jährlich gefüttert werden). Es müssen also durch einen einzigen Saugakt dem Körper ausgiebige Mengen verwertbarer Nährstoffe zugeführt werden. Dieselben sind im Blute vorhanden, jedoch mit größeren Quantitäten von Wasser und mineralischen Salzen vermischt. Die Zecke hat nun die Fähigkeit, im Verlauf des Saugaktes im Magensack eine Anreicherung der verwertbaren Nährstoffe herbeizuführen, dadurch, daß Wasser und leicht diffundierbare mineralische Substanzen relativ rasch durch die Darmwand in die Haemolympe gelangen und durch Vermittlung des Coxalorgans nach außen abgestoßen werden. So beobachtet man in der zweiten Hälfte des Saugaktes, wenn der Zeckenkörper bereits prall gedehnt ist, eine Muskelkontraktion, welche die typischen Dorsalfurchen wieder klar in Erscheinung treten läßt und das Coxalorgan veranlaßt, in Funktion zu treten. Durch die beiden Coxalporen tritt nun die klare Coxalflüssigkeit aus, die sich, soweit die bisherigen Analysen reichen, vornehmlich aus Wasser und mineralischen Substanzen zusammensetzt. Unter dem Einfluß dieser ersten Entleerung sackt der Zeckenkörper zunächst zusammen; da aber der Saugakt weitergeht und dem Darm stets neues Blut zugeführt wird, kommt allmählich eine Anreicherung seines Inhaltes zustande. Die hochmolekularen Blutstoffe werden darin zurückgehalten, die übrigen via Haemolympe und Coxalorgan nach außen abgeführt. Das Quantum der Coxalflüssigkeit, das auf diese Weise ausgeschieden wird, übersteigt im Total 2- bis 3mal das Körpergewicht der Zecke. Das Coxalorgan wirkt dabei offenbar wie eine Art Filter, indem es

gewisse Stoffe zurückhält, wodurch zwischen Haemolymphe und Darminhalt ein Ausgleich der Ionenkonzentration zustande kommt. So stellt sich also das Coxalorgan dar als ein wichtiger Regulator, der im Verlaufe der Blutmahlzeit eine Anreicherung der für den Zeckenkörper nötigen Nährstoffe ermöglicht. Dieser Akt leitet die sich über Wochen ausdehnenden Verdauungsprozesse ein.

4. Ueberblick über die Befunde anderer Autoren.

Im vorausgehenden Kapitel sind durch eingehende anatomische Beschreibung die nötigen Vorstellungen über Lage und Funktion der wichtigsten inneren Organe von *Ornithodoros moubata* vermittelt worden. Bevor nun die eigenen Resultate über den Infektionsverlauf mit *Spirochaeta duttoni* geschildert werden, ist es notwendig, die Resultate und Meinungen der anderen Autoren zu diesem Thema anzuhören: Zwei Probleme sind es vor allen Dingen, mit denen sich die Forschung beschäftigt hat. Das erste betrifft das Schicksal der in den Zeckenkörper gelangten Spirochaeten selber, d. h. die Frage, ob sie dort gewissen Zustandsänderungen unterworfen sind, also im Ueberträger, ähnlich wie andere Erreger, einen ganz bestimmten Teil eines Entwicklungszyklus zurücklegen.

Der andere Fragenkomplex betrifft das Verhalten der Zeckenorgane gegenüber den Spirochaeten, wobei es sich darum handelt, zu wissen, in welche Organe der Erreger eindringt und welche derselben bei der Uebertragung eine Rolle spielen könnten.

a) Ansichten über die Entwicklung der Spirochaeten in der Zecke.

Es würde hier zu weit führen, die Ansichten jedes Autors im einzelnen zu beschreiben; wir begnügen uns deshalb, diese kurz zu skizzieren und durch thematische Gruppierung möglichst übersichtlich darzustellen.

Eine erste Gruppe von Autoren, DUTTON & TODD (1905—1907), LEISHMAN (1907—1920), FANTHAM (1911—1916), HINDLE (1911), HATT (1929) sowie NICOLLE und Mitarbeiter (1930), glaubten, beobachtet zu haben, daß die Spirochaeten im Darmlumen bzw. erst nach dem Eindringen in die Darmwand ihre Beweglichkeit verlieren. Nach 3—4 Tagen würden sie durch Fragmentierung in eine große Zahl stäbchen- oder kokkenförmige «Chromatinkörner» oder «Granulae» zerfallen. Dieser Vorgang wird z. B. von DUTTON & TODD (1905) so geschildert, daß vorerst die als Periblast bezeichnete Hüllschicht an verschiedenen Stellen aufquillt, später dann aufbricht, wobei die Zerfallsprodukte als «Granulae» austreten. Vollzieht sich dieser Vorgang im Darmlumen, so dringen die «Granulae»

in die Epithelzellen der Darmwand ein. Vom 10. Infektionstage an sollen keine normalen Spirochaeten mehr sichtbar sein, dagegen können nun vorwiegend in den Malpighischen Gefäßen, im Coxalorgan, im Ovar, seltener in den Speicheldrüsen die «Granulae» beobachtet werden. Während nach DUTTON & TODD, HATT sowie NICOLLE u. a. aus den «Granulae» erneut bewegliche Spirochaeten hervorgehen, konnte LEISHMAN eine solche Entwicklung nur dann beobachten, wenn die Zecken bei einer Temperatur über 25 Grad C gehalten wurden. In diesem Falle sollen schon kurz nach dem Verschwinden der typischen Spirochaeten, d. h. nach dem Zerfall in «Granulae», aus diesen Jungspirochaeten hervorgehen. LEISHMAN beschreibt, wie er die Entstehung neuer kleiner Spirochaeten beobachten konnte. Wurden die infizierten Zecken jedoch unter 25 Grad C gehalten, so fand keine Entwicklung zu typischen Spirochaeten mehr statt.

Zu ähnlichen Resultaten gelangte auch HINDLE (1911 a, 1911 b). Hielt er die infizierten Zecken bei 21 Grad C, so verschwanden die Recurrens-Erreger nach 10 Tagen aus dem Darm und ließen sich mikroskopisch in keinen anderen Organen mehr nachweisen, obgleich deren Aufschwemmungen, weißen Mäusen injiziert, jeweils zu Erkrankungen führten. Die Spirochaeten waren demnach in irgendeiner infektiösen Form vorhanden. Wurden die Zecken bei 35 Grad C gehalten, so wiesen alle Organe wieder typische Spirochaeten auf ⁴.

Die modernsten Vertreter der Granulationstheorie sind wohl HAMPP und Mitarbeiter (1948), die mit dem Elektronenmikroskop in Kulturen von Mundspirochaeten und *Treponema pallidum* den Vermehrungsmodus studierten. Aus den erhaltenen Mikrophotographien glauben sie bei gewissen Erregern cystenartige Gebilde zu erkennen, aus welchen neue Spirochaeten hervorgehen sollen.

Dieser Granulationstheorie steht nun die Auffassung der zweiten Autorengruppe gegenüber, WITTROCK (1913), KLEINE & ECKARD (1913), KLEINE & KRAUSE (1932), FENG & CHUNG (1936—1939) sowie BONÉ (1938—1939). Sie sind der Ansicht, die Spirochaeten würden nicht granulös zerfallen, sondern Querteilungen durchmachen, an denen sowohl der Achsenfaden als auch der Periblast beteiligt sind. Sie beobachteten einerseits einfache Teilungen, durch welche die Spirochaete in zwei mehr oder weniger gleich lange Tochtterspirochaeten zerfällt, andererseits auch multiple Teilungen, aus welchen eine größere Anzahl von Jungspirochaeten resultieren.

⁴ Den eigentlichen Spirochaetenzerfall in «Granulae» oder kokkenartige Körperchen wie auch das Wiederauswachsen zu normalen Formen bei höheren Temperaturen untersuchte Hindle (1911 b) an infizierten Vogelzecken.

Allerdings leugnen diese Autoren das gelegentliche Vorhandensein von «Granulae» im Darmlumen wie auch in den genannten Organen nicht, jedoch bewerten sie dieselben als Degenerationsprodukte abgestorbener Spirochaeten.

b) Ansichten über das Verhalten der Zeckenorgane gegenüber *Borrelia duttonii*.

Der besseren Uebersicht wegen sind die Daten, die im folgenden noch einzeln diskutiert werden sollen, in Tabelle 1 zusammengestellt worden. Diese enthält in chronologischer Reihenfolge die Befunde der verschiedenen Autoren über die Organinfektion durch *Spirochaeta duttoni* sowie deren Ergebnisse betreffend der Uebertragungsweise auf den Warmblüter.

Die ersten eingehenden Untersuchungen zu diesem Thema hat wohl KOCH (1905, 1906) an 645 in Ostafrika gesammelten Zecken durchgeführt. Er stellte fest, daß 71 davon infiziert waren, und zwar fand er Spirochaeten in keinen anderen Organen als in den Ovarien. Die gleichen Beobachtungen konnte er an künstlich infizierten Zecken anstellen. Nach 4 Tagen sollen die Spirochaeten aus dem Darm verschwinden und sich nur noch, oft in dichten Knäueln und Zöpfen, an den Ovarien und in den Eiern nachweisen lassen. Den eigentlichen Uebertragungsmodus auf den Warmblüter konnte er, wie auch DUTTON & TODD (1905—1907), noch nicht ermitteln. Die beiden letztgenannten Autoren arbeiteten, wie schon erwähnt worden ist, vor allem über den Entwicklungszyklus von *Borrelia duttonii* in der Zecke. «Granulae» wie auch typische Spirochaeten fanden sie jeweils in den Malpighischen Gefäßen und konnten auch experimentell den Nachweis der germinativen Erregerübertragung auf die Nachkommenschaft infizierter Zecken erbringen. Nach LEISHMAN, HINDLE und FANTHAM werden vor allem die Zellen der Malpighischen Gefäße sowie die Eizellen im Ovar von den als Entwicklungsstadien angesprochenen «Chromatinkörnern» oder «Granulae» befallen. An diese letzte Beobachtung anschließend, greifen diese Autoren die erstmals von DUTTON & TODD (1905), fast gleichzeitig auch von KOCH (1905) ausgesprochene Theorie der germinativen Uebertragung wieder auf und glauben in gleichgearteten «Granulae», die sie in den Malpighischen Gefäßen jüngster Zecken finden, die via Ovar plasmatisch übertragenen Ausgangsformen von *Borrelia duttonii* wiederzuerkennen. Verimpfungen von Zellmaterial mit solchen Einschlüssen auf Mäuse führten jeweils zu positiven Resultaten.

Die Uebertragung von *Borrelia duttonii* erfolgt nach LEISHMAN und FANTHAM infolge Absonderung der «Granulae»-haltigen Coxalflüssigkeit und der Sekrete der Malpighischen Gefäße. HINDLE

TABELLE 1.

Zusammenstellung der bisherigen Ergebnisse über die Organinfektion und über den Uebertragungsmodus von *Ornithodoros moubata* auf den Warmblüter.

Autoren	Central-ganglion	Malpighische Gefäße	Speicheldrüsen	Coxalorgan	Kopfdrüse	Ovar bzw. Eier	Uebertragungsmodus
Koch 1905/06	—	—	—	—	—	+	0
Dutton & Todd 1905/07	0	(+)	0	0	0	(+)	0
Leishman 1907/20	0	(+)	(+)	(+)	—	(+)	Coxalflüssigkeit, Sekrete der Malpighischen Gefäße
Hindle 1911	0	(+)	—	—	0	(+)	Sekrete der Malpighischen Gefäße
Fantham 1911/16	0	(+)	—	(+)	0	(+)	Coxalflüssigkeit, Sekrete der Malpighischen Gefäße
Todd 1913	0	0	0	0	0	0	Coxalflüssigkeit
Kleine & Eckard 1913	0	+	+	+	+	+	0
Zuelzer 1920	0	0	0	0	0	0	Coxalflüssigkeit
Nicolle u. a. 1930	0	0	+	0	0	(+)	Sekrete der Speicheldrüsen
Kleine & Krause 1932	0	+	+	+	0	+	Coxalflüssigkeit, Sekrete der Speicheldrüsen
Feng & Chung 1936/39	+	—	+	+	0	0	Coxalflüssigkeit, Sekrete der Speicheldrüsen
Boné 1938/39	0	—	?	+	0	+	Coxalflüssigkeit

Legende: 0 = Organe nicht untersucht.

— = Organe ohne Spirochaeten.

+

(+) = Organe mit «granulaartigen Entwicklungsstadien».

(1911 a) konnte jedoch experimentell mit der Coxalflüssigkeit infizierter Zecken keine Erkrankung der Versuchstiere hervorrufen. Nach ihm soll lediglich das weiße, aus dem After entleerte Sekret der Malpighischen Gefäße die infektiösen «Granulae» enthalten und mit der Coxalflüssigkeit vermischt in die Bißwunde eindringen.

TODD (1913) und ZUELZER (1920) konnten die Infektiosität der Coxalflüssigkeit durch Injektion auf weiße Mäuse nachweisen.

In natürlich infizierten Zecken (45 Individuen) aus Tanganyika fanden KLEINE & ECKARD (1913) der Häufigkeit nach typische Spirochaeten in den Ovarien, in den Coxalorganen, in den Malpighischen Gefäßen, in den Kopfdrüsen sowie in den Speicheldrüsen. Wie bereits KOCH, fanden auch sie auf den Ovarien und in den Eiern Knäuelbildungen von Erregern. Untersuchungen über den Uebertragungsmodus von *Ornithodoros moubata* liegen von diesen Autoren nicht vor; hingegen beschäftigten sich damit vor allem NICOLLE und Mitarbeiter (1930). Sie kommen zum Schluß, daß nur im Nymphenstadium infizierte Zecken befähigt sein sollen, die Spirochaeten via Speicheldrüsen durch den Biß zu übertragen. Stets negativ verliefen die Versuche mit Zecken, die im Adultstadium infiziert worden sind. Nicht untersucht haben sie die Infektionsmöglichkeiten durch die Coxalflüssigkeit und durch die Exkrete der Malpighischen Gefäße.

Zu gleichen Resultaten wie schon KLEINE & ECKARD kamen KLEINE & KRAUSE (1932). Wiederum fanden sich die Recurrens-erreger der Häufigkeit nach in den Ovarien, in den Coxalorganen, in den Malpighischen Gefäßen und in den Speicheldrüsen. Für die Uebertragung auf den Warmblüter konnten hauptsächlich die Coxalflüssigkeit, zuweilen aber auch die Sekrete der Speicheldrüsen verantwortlich gemacht werden.

Eingehende Untersuchungen über den zeitlichen Organbefall führten FENG & CHUNG (1936) an 52 infizierten Zecken durch. Der Spirochaetennachweis gelang ihnen während der ersten 12 Tage im Magensack, vom 4. Tage an in den Speicheldrüsen, im Coxalorgan und im Centralganglion. Nur ausnahmsweise erwiesen sich die Zellen der Malpighischen Gefäße, aber nie deren Exkrete als spirochaetenhaltig. Auch prüften diese Autoren die experimentellen Uebertragungsmöglichkeiten auf den Warmblüter. Bei Injektion von Coxalflüssigkeit infizierter Zecken erhielten sie, wie schon frühere Autoren, positive Resultate. Vor allem wurde auch die Infektionsmöglichkeit durch den Zeckenbiß allein, also vor Abgabe der Coxalflüssigkeit, untersucht. Von 7 Versuchen, bei welchen jedesmal mehr als 15 stark infizierte Zecken (wobei nicht gesagt wird, ob es sich um geschlechtsreife Individuen oder Nymphen handelt) einer weißen Maus angesetzt wurden, zeigten 4 Versuche

ein positives Ergebnis. Wurden hingegen pro Versuch weniger als 15 Zecken angesetzt, so verliefen alle Experimente negativ. Daraus folgerten nun FENG & CHUNG, daß die natürliche Spirochaetenübertragung nicht nur via Coxalflüssigkeit, sondern bis zu einem gewissen Grade auch via Speicheldrüsensekret erfolgen kann.

Aber auch diese Resultate wurden kurze Zeit später von BONÉ (1938a, 1939c) teilweise bestritten. Die Uebertragung erfolgt nach ihm lediglich durch die Coxalflüssigkeit; ob die Speicheldrüsen überhaupt spirochaetenfrei sind, geht aus seiner Arbeit nicht hervor. In den Malpighischen Gefäßen konnte BONÉ nie Spirochaeten beobachten. Letztere sollen nach Durchquerung der Darmwand in die Haemolymph gelangen und von hier aus das Coxalorgan und das Ovar befallen. In frisch abgelegten Eiern infizierter Zeckenweibchen konnte BONÉ mikroskopisch wie experimentell durch Verimpfung auf weiße Mäuse Spirochaeten nachweisen, womit er die bereits von DUTTON & TODD, KOCH u. a. gemachten Beobachtungen bestätigte.

Die Ansichten und Resultate der einzelnen Autoren sind hier zunächst kommentarlos und in aller Kürze wiedergegeben worden. Es wird sich in den folgenden Kapiteln Gelegenheit bieten, dazu Stellung zu nehmen. Für den eigenen Arbeitsplan galten folgende Richtlinien:

Es sollte der gesamte Infektionsverlauf im Ueberträger noch einmal genau nachgeprüft werden, und zwar an einer viel größeren Zahl von Zecken, als dies bisher im allgemeinen geschehen ist. Im Gegensatz zu den meisten früheren Autoren sollte auch dem Altersstadium der in den Versuchen verwendeten Zecken besondere Beachtung geschenkt werden.

Die Untersuchungen sollten sich außerdem auf eine genauere Kenntnis der Zeckenanatomie, wie sie bereits dargelegt worden ist, gründen. Aber auch die Morphologie von *Borrelia duttonii* sollte durch Beobachtung, durch Messungen und unter Verwertung des Hilfsmittels der Photographie erfaßt werden. Des weiteren sollte versucht werden, die Affinität der Spirochaeten zu gewissen Zeckenorganen experimentell nachzuprüfen.

Als dann sollte unter Berücksichtigung der verschiedenen Zeckenstadien erneut die Frage geprüft werden, welche Organe an der Uebertragung des afrikanischen Rückfallfiebers beteiligt sind.

II. ANALYSE DES INFEKTIONSVERLAUFES IN DER ZECKE.

Es soll nun unter ungefährrer Einhaltung der natürlichen Reihenfolge Schritt für Schritt untersucht werden, wie die Spirochaeten nach einer infizierenden Blutmahlzeit vom Magensack aus sich im Körper der Zecke verbreiten und vermehren, um schließlich gewisse Organe zu befallen, durch welche sie wieder auf den Warmblüter gebracht werden können.

A. Befall der Zeckenorgane durch *Spirochaeta duttoni*.

1. *Das Verhalten der Spirochaeten im Magensack.*

Für die folgenden Untersuchungen wurden je 100 bis 150 streng nach den 6 Nymphen- und dem Adultstadium gesonderte Zecken an weißen Mäusen (deren Blutbilder bei 540facher Vergrößerung durchschnittlich pro Blickfeld 5 Spirochaeten enthielten) infiziert. Tägliche Sektionskontrollen an wenigstens drei Zecken jeder Versuchsserie orientierten über das Verhalten der Spirochaeten im Lumen und in der Wandung des Magensackes.

Die mit dem Mäuseblut in den Mitteldarm von *Ornithodoros moubata* gelangenden Spirochaeten sind, wie bereits erwähnt, durchschnittlich $22\ \mu$ lange, oft in Teilung begriffene Formen. Der Teilungsvorgang von *Borrelia duttoni* wird später in Kapitel II, A, 2 b, Seite 219 im einzelnen noch dargelegt werden; trotzdem soll hier schon vorweggenommen werden, daß sich die Erreger des Rückfallfiebers durch *Querteilung* ihres Körpers vermehren. Diese erfolgt meist in der Körpermitte, so daß zwei annähernd gleich große Jungspirochaeten entstehen (vgl. Abb. 6, 10). Infolge dieser Teilungen nimmt nun in der Darmfüllung die Durchschnittslänge der Erreger ab und beträgt nach den ersten 4 Infektionstagen nur noch $15\ \mu$. Neben den normal entwicklungsfähigen aktiven Spirochaeten werden mit zunehmender Infektionszeit immer mehr Formen gefunden, die nur schwach beweglich oder gänzlich starr in der Darmfüllung dahintreiben. Es handelt sich hier wahrscheinlich um absterbende oder bereits abgestorbene Erreger, die in der Zecke nicht entwicklungsfähig sind; auf diesen Punkt wird später noch eingegangen werden.

Vom 4./5. Infektionstage an scheinen die aktiven Recurrenserreger allmählich aus der eigentlichen Darmfüllung zu verschwinden. Ihr Nachweis wird von Tag zu Tag schwieriger, während nun die leblosen, zerfallenden Formen häufiger in Erscheinung treten.

Nach so kurzer Zeit aber verschwinden die aktiven Spirochaeten noch nicht aus der Darmfüllung, sondern lassen sich am Darmepithel und an dessen unmittelbarer Umgebung zahlreich feststellen. Ihr Nachweis gelingt, wenn ein Stück Darmwand sorgfältig nur so vom Blutbrei gereinigt wird, daß daran noch kleinere Blutinseln anhaften. Morphologisch weichen diese Spirochaeten von den bisher betrachteten Formen nicht ab. Sie sind durchschnittlich $15\ \mu$ lang und immer noch stark beweglich.

Die aufgenommenen Spirochaeten verbreiten sich demnach während der ersten 3 bis 4 Tage im ganzen Darmlumen und lassen sich auch ohne weiteres in Darmflüssigkeitspräparaten feststellen. Schon vom ersten Infektionstage an aber beginnen sie sich peripher an der Darmwand zu lokalisieren, so daß schließlich etwa vom 10. Tage an in der eigentlichen Darmfüllung meist nur noch die vorher erwähnten «Spirochaetenleichen» zu finden sind.

In der Darmfüllung von *Ornithodoros moubata* läßt sich sowohl bei Nymphen als auch Adultzecken (vgl. Tabelle 2) eine durchschnittliche Aufenthaltszeit aktiver Spirochaeten von 16 Tagen ermitteln. Es muß jedoch erwähnt werden, daß vom 12. Infektionstage an der Erregernachweis nur noch bei Durchsicht mehrerer Präparate gelingt.

Die Spirochaeten reichern sich aber nicht nur kurz nach Aufnahme in den Zeckenmagen an dessen Epithelschicht an, sondern dringen auch in diese ein. Nach 2 Tagen schon gelingt es bei allen Zeckenstadien, sowohl im Darmepithel als auch in der Basalmembran, vereinzelt eingedrungene Formen zu beobachten. Je länger die Infektionszeit wird, um so mehr Spirochaeten befallen das Darmepithel (vgl. Abb. 7). Mit ruckartig ausgeführten Dreh- und Bohrbewegungen arbeiten sie sich durch die Darmschichten hindurch. Auch diese Spirochaeten weichen morphologisch von jenen in der Darmfüllung gefundenen nicht wesentlich ab. Ihre Durchschnittslänge ergibt von Zecke zu Zecke verschiedene Werte, doch liegen diese zwischen 13 und $17\ \mu$.

Die Darmwand kann (vgl. Tabelle 2) außerordentlich lang infiziert bleiben. Während bei den Zeckennymphen nach 30 bis 40 Infektionstagen keine Formen mehr festzustellen sind, können bei Adulttieren noch nach 45 Tagen vereinzelt Erreger gefunden werden. Die in Tabelle 2 zusammengestellten Daten sind als Durchschnittswerte zu betrachten. Es gibt natürlich immer wieder einzelne Zecken, bei welchen die Spirochaeten früher oder später in die Darmwand eindringen, oder auch solche, bei denen ein kürzerer oder längerer Spirochaetenaufenthalt in der Darmwand zu beobachten ist.

TABELLE 2.

Zeitliches Auftreten von *Borrelia duttonii* in Darmfüllung und Darmwand von *Ornithodoros moubata*.

Alter der Zecken	Infektion in Tagen:																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. Nymphen- stadium 150 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-
	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
2. Nymphen- stadium 150 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
3. Nymphen- stadium 150 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	-	-	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
4. Nymphen- stadium 100 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
5. Nymphen- stadium 100 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
Adult- stadium 100 Zecken	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	-	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)

Legende:

+ == starker Spirochaetenbefall.

(+) == schwacher Spirochaetenbefall.

- == keine Spirochaeten sichtbar.

Weder im Darmlumen noch im Darmepithel konnten die von DUTTON & TODD und anderen Autoren geschilderten Zustandsänderungen von *Borrelia duttonii* beobachtet werden. Ein Zerfall der Erreger in die sog. «Granulae» müßte ja das vollständige Verschwinden normaler, aktiver Spirochaeten aus der Darmfüllung und aus dem Darmepithel zur Folge haben. Die eigenen Beobachtungen weisen aber eindeutig darauf hin, daß die Erregerformen im Zeckenmagen wie auch in der Darmwand in unveränderter Gestalt vorhanden sind. Gegenüber den Spirochaeten im Mäuseblut zeigen sie nur eine unbedeutende, auf die starke Vermehrung durch Teilung zurückzuführende Längenverminderung auf. Wohl lassen sich schon kurze Zeit nach erfolgtem Saugakt in der Darmfüllung vereinzelte unbewegliche Spirochaeten, später auch deren Bruchstücke beobachten. Es handelt sich dabei jedoch zweifellos um Degenerationsprodukte abgestorbener Erreger, die mit irgendeiner Entwicklungsform schon deshalb nichts zu tun haben, weil sie noch lange nach dem Verschwinden der aktiven Spirochaeten aus der Darmfüllung darin zu finden sind.

Nimmt man trotzdem an, die Spirochaeten würden sich im Sinne der Granulationstheorie von LEISHMAN entwickeln, so müßten bei 30° C schon im Darmepithel aus den zahlreichen «Granulae» jeweils kleine, bewegliche Formen hervorgehen. Daß dies jedoch nicht zutrifft, geht aus den Beobachtungen hervor, wonach im Darmepithel nur äußerst selten aktive Recurrenserreger festgestellt werden können, deren Länge weniger als 8 μ beträgt.

2. Die Bedeutung der Haemolymphe für den Infektionsverlauf.

Nach Durchquerung der Darmwand gelangen die Spirochaeten in die Körperflüssigkeit bzw. Haemolymphe. Es soll nun untersucht werden, wann und in welcher Form die ersten Erreger in diese Flüssigkeit eindringen, und ob ihr für die Entwicklung und Vermehrung von *Borrelia duttonii* eine Bedeutung zukommt.

a) Das zeitliche Auftreten der Spirochaeten in der Haemolymphe.

Zur Klärung dieser Frage wurden 200 Zecken im Nymphen- wie auch Adultstadium an weißen Mäusen (deren Blutbilder bei 540-facher Vergrößerung durchschnittlich 6 Spirochaeten enthielten), infiziert und nach Alter, zum Teil auch nach Geschlecht gesondert, in Serien von 10—30 Tieren gehalten. Einerseits wurde mit dem «Nairobi»-Laboratoriumsstamm, andererseits mit einem aus natürlich infizierten Zecken von Mkasu (Tanganyika) isolierten Spirochaetenstamm gearbeitet.

Zur Gewinnung der täglich auszutestenden Zeckenhaemolymph bediente man sich der bereits in der Einleitung ausführlich geschilderten Methode. Diese hat allerdings gewisse unvermeidliche Mängel, die bei der Beurteilung der Resultate berücksichtigt werden müssen. So bleibt z. B. die Menge der aus dem coupierten Zeckenbein ausfließenden Haemolymph keineswegs konstant. Während in den ersten Tagen jeweils sehr viel Körperflüssigkeit austritt, gelingt es nach 10tägiger Beanspruchung der Versuchstiere kaum mehr, genügend Haemolymph zur Herstellung eines Präparates zu gewinnen. Trotz diesen Schwierigkeiten läßt sich das Infektionsgeschehen in der Körperflüssigkeit von *Ornithodoros moubata* gut verfolgen.

Wie aus den Tabellen 3, 4 und 5 ersichtlich ist, durchqueren die Spirochaeten die Darmwand mit großer Geschwindigkeit. Von den insgesamt 200 ausgetesteten Zecken wiesen nach 24stündiger Infektionszeit bereits deren 8 in der Haemolymph Spirochaeten auf (vgl. Tabelle 3).

TABELLE 3.

Erstes Auftreten der Spirochaeten in der Haemolymph.

(Total 200 untersuchte Zecken.)

Infektionsdauer (in Tagen)	Erster Spirochaetennachweis in der Haemolymph	
	n-Zecken	d. h. %
1	8	4
2	32	16
3	22	11
4	35	17,5
5	16	8
6	25	12,5
7—13	40	20
negativ bleiben :	22	11
Total :	200	100 %

Von Tag zu Tag erhöht sich die Zahl der positiven Haemolymphkontrollen und erreicht in gewissen Versuchsserien nach 5 bis 6 Tagen 90—100% (vgl. auch Tabelle 4, Serien I, II und III).

Obgleich alle Versuchstiere unter den gleichen Bedingungen infiziert wurden, traten vorwiegend bei geschlechtsreifen Zecken immer wieder solche auf, in deren Körperflüssigkeit oft nach mehr als 20 Tagen noch keine Spirochaeten festgestellt werden konnten. Die Sektionsbefunde dieser Tiere ergaben jeweils im Darmlumen

TABELLE 4.

Auftreten und Vermehrung der Spirochaeten in der Zeckenhaemolymphe.

Alter der Zecken	Zecke Nr.	n-Tage nach infizierendem Saugakt:							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Serie I <i>O. moubata</i> 4. Nymphen- stadium	1	—	—	—	—	—	1	—	6
	2	—	—	—	—	—	3	5	17 †
	3	—	—	—	—	—	—	—	2
	4	—	—	—	2	14	8	30*	98
	5	2	4	100*	†	—	—	—	—
	6	—	—	—	—	—	4	—	7
	7	—	—	—	—	1	—	—	2
	8	—	—	—	—	2	—	—	—
	9	—	—	—	14	19*	100*	100*	†
	10	—	—	—	—	—	2	17	†
Serie II <i>O. moubata</i> 5./6. Nymphen- stadium	1	—	—	—	—	—	38*	—	—
	2	—	—	—	2	6	24*	—	—
	3	—	—	—	—	—	2	—	—
	4	—	—	—	1	2	1	—	—
	5	—	—	—	—	—	7	—	—
	6	—	—	1	2	45	26	—	—
	7	—	—	4	21*	92	100	—	—
	8	—	—	—	5	10*	22	—	—
	9	—	—	—	5	22*	100	—	—
	10	—	—	—	—	1	9	—	—
Serie III <i>O. moubata</i> adult ♂ + ♀	1	—	—	3	1	2	4	7	—
	2	—	—	—	7	9	7	20	—
	3	—	2	3	1	4	2	1	—
	4	—	—	4	6	12	5	1	—
	5	—	—	—	4	2	6	6	—
	6	—	1	10	13	36*	100	100	—
	7	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ
	8	—	—	—	—	—	1	7	—
	9	—	—	—	1	3	17	10	—
	10	—	—	—	—	1	3	10	—

Legende: † = Zecken wurden abgetötet und für Organanalyse verwendet.

* = Auftreten von Knäuelbildungen.

große Mengen abgestorbener Spirochaeten. Zuweilen konnten auch noch im Darmepithel vereinzelte, inaktive Formen gesichtet werden. Es gibt somit zweifellos in einer Zeckenpopulation einen gewissen nicht ohne weiteres bestimmbar Prozentsatz von Individuen, in welchen eine Evolution der Spirochaeten von Anbeginn

TABELLE 5.

Auftreten und Vermehrung der Spirochaeten in der Zeckenhaemolymph.

Alter der Zecken	Zecke Nr.	n-Tage nach infizierendem Saugakt:										
		1	2	3	4	5	6	8	10	13	16	
Serie I <i>O. moubata</i> adult ♀	1	—	—	—	—	—	—	—	—	10*	12	
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	3	—	1	—	6	3	8	12†	—	bleibt negativ		
	4	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	
	5	—	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	6	—	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	7	4	100*	100*	79	20*	26	20	—	4	4	
	8	—	—	10	16	12*	34	37	—	41	6	
	9	—	15*	8	40	22	17	7	—	4	3	
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	2	4	
	11	—	—	—	1	1	14*	14†	—	bleibt negativ		
	12	—	—	—	—	—	—	8	—	10†	—	
	13	—	—	—	4	6	5	100*	—	100*	100*	
	14	—	—	—	2	1	7	8*	—	26	39	
	15	—	—	—	—	—	—	4	—	1	9	
	16	—	—	—	—	—	—	—	—	3	55*	
	17	—	—	—	—	—	—	6	—	12	—	
	18	—	—	—	—	—	—	—	—	4	1	
	19	—	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	20	—	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	21	—	—	—	—	—	—	—	—	12	28*	
	22	—	5	1	12	6	7	20*	—	100*	100*	
	23	—	3	9	3	4	2	32*	—	43	15	
	24	—	—	—	—	—	—	—	—	1	58	
	25	—	—	3	8	12	54*	15	—	16	100*	

Alter der Zecken	Zecke Nr.	n-Tage nach infizierendem Saugakt:									
		1	2	3	4	5	8	10	13	19	30
Serie II <i>O. moubata</i> adult ♂	1	—	3	5	—	4	6	2	3	—	14
	2	2	31*†	—	—	—	—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—	—	—	2	6	35
	4	—	—	—	—	—	—	—	bleibt negativ		
	5	—	5	7	—	76*†	—	—	—	—	—
	6	—	4	—	—	—	11	6*	8*	25*†	—
	7	—	—	—	—	1	4	1	20	—	2
	8	—	—	—	—	—	—	1	—	10	28

Legende: † = Zecken wurden abgetötet und für Organanalyse verwendet.
 * = Auftreten von Knäuelbildungen.

an unmöglich ist. Nach SCHUBERG & MANTEUFEL (1910) sowie HINDLE (1911) soll es sich bei solchen Zecken um Tiere handeln, die gegenüber *Spirochaeta duttoni* immun sind.

Die ersten in der Haemolymph nachweisbaren Spirochaeten sind lange, oft in Teilung begriffene Formen. Ihre Längen entsprechen, wie aus den Tabellen 6 und 7 (nach einer Infektionszeit von 3 und 5 Tagen) ersichtlich ist, durchaus den im Darmlumen gefundenen Werten.

Gerade diese Ergebnisse sprechen eindeutig gegen die von DUTTON & TODD, LEISHMAN und anderen Autoren verfochtene Ansicht der Spirochaetenentwicklung im Zeckendarm. Ein Zerfall der Erreger in «Granulae» oder «Chromatinkörner», aus welchen nach einiger Zeit Jungspirochaeten austreten sollen, müßte sowohl im Darmepithel als auch in der Haemolymph das Auftreten kleinster Erregerformen zur Folge haben. Nach LEISHMAN und HATT vollzieht sich die Spirochaetenentwicklung während mehrerer Tage, so daß die ersten Jungspirochaeten (bei 30° C) erst vom 10. Infektionstage an in der Körperflüssigkeit auftreten. Im allgemeinen erfolgt aber, wie Tabelle 3 zeigt, bei unseren Zecken das Erstauftreten viel früher. Dagegen stimmen die eigenen Resultate annähernd mit den Angaben von FENG & CHUNG (1936) sowie von BONÉ (1939 b, 1939 c) überein.

Die erstgenannten Autoren konnten schon 6 Stunden nach infizierendem Saugakt in der Haemolymph ihrer Zecken Spirochaeten feststellen. Ueber die Anzahl der Tiere, die nach einer so kurzen Zeit einen positiven Befund aufwiesen, machen diese Autoren keine Angaben, doch es scheint auf Grund der eigenen Ergebnisse durchaus möglich, daß die Haemolymph stark infizierter Zecken schon nach wenigen Stunden Infektionszeit spirochaetenhaltig wird. Nach BONÉ erscheinen die Spirochaeten erst vom 2. Tage an in der Körperflüssigkeit. Er selbst stellte fest, daß sich offenbar seine Zecken im Gegensatz zu jenen von FENG & CHUNG weniger leicht infizierten.

b) Das Verhalten von *Borrelia duttonii* in der Haemolymph.

Auf das Erstauftreten von Spirochaeten in der Haemolymph folgt ein rasches Zunehmen der Erreger, das einerseits auf das Freiwerden von Formen aus der Darmwand, andererseits aber auch auf Teilungen in der Körperflüssigkeit zurückzuführen ist. Die Intensität und das zeitliche Auftreten der Spirochaetenvermehrung sind, wie die Tabellen 4 und 5 darstellen, von Zecke zu Zecke verschiedenen und verlaufen keineswegs gesetzmäßig. Während im allgemeinen die Erregerzahl erst mit fortschreitendem Infektionsalter zunimmt, zeigen vereinzelte Versuchstiere schon nach 2—3 Tagen

TABELLE 6.

*Spirochaetenlängenmessungen in der Haemolymph.*Serie I: *O. moubata*, adult.

Infektions- dauer Tage	Versuchstier Nr.	Zahl der gemessenen Spirochaeten	Durch- schnittslänge in μ	Kleinste gemessene Form
3	1	—	—	—
	2	123	17,8	10,4
	3	1	14,3	14,3
	4	—	—	—
	5	—	—	—
	6	6	15,4	11,7
	7	—	—	—
	8	—	—	—
5	1	34	16,0	10,4
	2	208	16,2	10,4
	3	24	14,4	10,4
	4	23	14,6	10,4
	5	15	13,4	11,7
	6	Zecke seziert		
	7	1	16,9	16,9
	8	14	13,4	10,4
9	1	228	12,7	7,8
	2	Zecke seziert		
	3	151	12,4	7,8
	4	219	11,8	7,8
	5	88	12,2	6,2
	7	Zecke seziert		
	8	Zecke seziert		
12	1	202	12,9	7,8
	3	39	13,7	9,1
	4	Zecke seziert		
	5	215	10,3	5,2
14	1	210	11,9	7,8
	3	103	14,0	9,1
	5	Zecke seziert		
30	1	205	17,0	9,1
	3	203	14,0	10,4

TABELLE 7.

*Spirochaetenlängenmessungen in der Haemolymph.*Serie II: *O. moubata*, adult.

Infektions- dauer Tage	Versuchstier Nr.	Zahl der gemessenen Spirochaeten	Durch- schnittslänge in μ	Kleinste gemessene Form
3	1	—	—	—
	2	79	18,1	11,7
	3	2	20,3	15,6
	4	1	16,9	16,9
	5	2	18,2	15,6
5	1	25	16,0	10,4
	2	206	17,4	9,1
	3	8	17,2	11,7
	4	11	14,6	11,7
	5	216	15,3	10,4
9	1	137	12,3	5,2
	2	253	14,5	9,1
	3	5	11,4	10,4
	4	217	13,2	7,8
	5	219	11,8	7,8
16	1	171	12,4	6,5
	2	Zecke seziert		
	3	109	12,2	6,5
	4	Zecke seziert		
	5	210	11,8	6,5
30	1	84	14,6	9,1
	3	6	11,9	10,4
	5	1	10,4	10,4

einen starken Spirochaetenbefall (vgl. Abb. 8). Wie später noch im einzelnen dargelegt werden soll, verbleiben die Spirochaeten nicht in der Haemolymph, sondern dringen in verschiedene Zekenorgane ein. Da nach 40—50 Tagen keine Erreger mehr aus der Darmwand in die Körperflüssigkeit gelangen und die intensive Vermehrung aufgehört hat, läßt sich nach dieser Zeit meist nur noch eine schwach positive Haemolymph feststellen. Dies kann jedoch nicht als Regel gelten, finden sich doch immer wieder Zecken, deren Körperflüssigkeit auch noch nach längerer Zeit stark infiziert ist. Diese kann überhaupt bei allen Zecken lebenslänglich positiv

bleiben. Die Infektionsstärke hängt aber vielfach von der Häufigkeit der Nahrungsaufnahme ab. Werden die Tiere während mehrerer Monate hungern gelassen, so verschwinden die Spirochaeten gänzlich aus der Haemolymphe. Füttert man sie hingegen alle 2—3 Monate, so kann der Erregernachweis jeweils mit Leichtigkeit erbracht werden.

Als charakteristische Erscheinungen während der Vermehrungsperiode in der Körperflüssigkeit von *Ornithodoros moubata* treten die schon von KOCH (1906) beobachteten Knäuelbildungen von *Borrelia duttonii* auf. Sie entstehen vorerst nur aus einzelnen, ineinander verflochtenen Spirochaeten, aus welchen sich durch Hinzutreten neuer, oft in Teilung begriffener Formen die in Abb. 9 wiedergegebenen Ansammlungen bilden. Es kommt ihnen jedoch nur ein vorübergehender Charakter zu, da sie sich nach kurzer Zeit wiederum in Einzelspirochaeten auflösen.

Die morphologischen Eigenschaften von *Borrelia duttonii* in der Körperflüssigkeit lassen sich an Hand der in den Tabellen 6 und 7 zusammengefaßten Beobachtungen wie folgt darstellen. Die ersten in Erscheinung tretenden Formen sind, wie schon auf Seite 215 erwähnt worden ist, lange, 15—20 μ messende Erreger. Mit zunehmendem Infektionsalter gelangen immer wieder neue, lange Spirochaeten in die Haemolymphe, andererseits treten nun infolge Teilungen mehrheitlich kleine 5—10 μ messende Formen auf. Die Durchschnittslänge nimmt deshalb erheblich ab und beträgt nach 10—15tägiger Infektionszeit je nach Zecke 11—13 μ . Diese Spirochaeten verschwinden allmählich aus der Körperflüssigkeit, so daß die aus den Darmzellen frei werdenden langen Spirochaeten eine erneute Zunahme der durchschnittlichen Erregerlänge bewirken.

Nach jeder weiteren Nahrungsaufnahme infizierter Zecken ist in der Haemolymphe 1, 3, 5 und 10 Stunden nach erfolgtem Saugakt eine starke Spirochaetenvermehrung festzustellen, die das Auftreten kleiner Formen zur Folge hat. Schon BONÉ (1938 b, 1939 c) gelang diese Beobachtung, und er stellte sich die Frage, ob das vermehrte Auftreten der kleinen Spirochaetenformen auf ein Freiwerden intrazellulärer «Granulae» zurückzuführen sei. Im Verlaufe seiner Untersuchungen konnte er jedoch einen solchen Entwicklungszyklus ausschließen und die plötzlich eintretende Spirochaetenvermehrung einerseits auf die *Temperaturerhöhung* (bedingt durch die Aufnahme warmen Säugerblutes), andererseits auf die *Erneuerung* der Körpersäfte durch Zufuhr menschlicher Blutflüssigkeit zurückführen.

Die Haemolymphe solcher frisch gefütterter Zecken eignet sich ausgezeichnet zur mikroskopischen Beobachtung des Teilungsvorganges von *Borrelia duttonii*. Dieser sei nun hier kurz beschrieben.

Die ersten Anzeichen einer bevorstehenden Teilung sind jeweils in der Mitte des Spirochaetenkörpers zu erkennen. Dabei entsteht vorerst ein mehr oder weniger gerades Verbindungsstück der beiden Spirochaetenhälften (vgl. Abb. 10). Aus diesem bildet sich eine Knickstelle aus, die es den Erregern ermöglicht, sich zu umschlingen, sich aneinanderzulagern und typische «V»- oder «Y»-ähnliche Gebilde zu formen (vgl. Abb. 17). Das Plasma trennt sich nun in zwei deutlich voneinander gesonderte Hälften, von denen jede eine Eigenbewegung aufweist. Die Trennung der beiden Spirochaeten konnte nie beobachtet werden. Kleine Formen mit plasmafreien, kurzen Anhängen lassen jedoch vermuten, daß diese infolge der stark schlagenden Bewegungen beider Hälften durch Bruch der Knickstelle zustande kommt.

Eine weitere Teilungsart, die in der Haemolympe nur selten, häufiger in den Organen beobachtet werden kann, ist die sogenannte *Mehrfach- oder multiple Teilung*. Der Spirochaetenachsfaden zerfällt dabei in mehrere, oft ungleich lange Teilstücke, die sich nach und nach durch Querteilung von der «Mutterspirochaete» lösen. Dabei entstehen kleinste, aktive Spirochaeten. Bei einer Zecke, die 230 Tage vorher infiziert worden war und auf einem Laboratoriumstier gefüttert werden mußte, betrug vor der Blutaufnahme die durchschnittliche Erregerlänge in der Haemolympe $12\ \mu$, 4 Stunden nachher von 200 gemessenen Spirochaeten nur noch $8\ \mu$; die kleinste Einzelform war $3\ \mu$, die kleinste Teilungsform $8\ \mu$ lang.

3. Das Eindringen der Spirochaeten in verschiedene Organe.

Bisher konnte gezeigt werden, daß die Spirochaeten nach einer von Zecke zu Zecke verschieden langen Infektionszeit in großer Zahl aus der Haemolympe verschwinden, um vermutlich in einzelne Organe einzudringen. Im folgenden wird nun die Frage erörtert, welche Organe von den Spirochaeten befallen werden. Dabei sollen vor allem die für eine spätere Erregerübertragung in Frage kommenden Speicheldrüsen, Coxalorgane und Malpighischen Gefäße, alsdann aber auch das Centralganglion untersucht werden. Die männlichen und weiblichen Geschlechtsorgane können unberücksichtigt bleiben, da sie Gegenstand einer weiteren Studie sein werden, die zurzeit unter Leitung von Prof. GEIGY am Tropeninstitut in Basel im Gange ist. Lediglich im Hinblick auf die bestehenden Entwicklungstheorien sind einige Untersuchungen in den sich im Ovar entwickelnden Eiern nötig.

Zur Klärung des Infektionsverlaufes in den Organen von *Ornithodoros moubata* wurden wiederum pro Altersstadium je 200 bis

300 reine Zecken an Mäusen (deren mikroskopische Blutbilder bei 540facher Vergrößerung durchschnittlich 5 Spirochaeten enthielten) infiziert. Auf Grund der täglich durchgeführten Sektionskontrollen ergaben sich für die einzelnen Organe die in den folgenden Kapiteln zusammengestellten Resultate.

TABELLE 8.

Befall der Speicheldrüsen von O. moubata.

Infiziert im:	Infektionsdauer in Tagen	Untersuchte Zecken	Befund		
			++	+	--
1. Nymphen- stadium	2	—	—	—	—
	3	15	3	3	9
	4	9	2	2	5
	5	14	4	2	8
	6	12	8	2	2
	7	15	9	2	4
	8	12	9	1	2
	10	29	20	7	2
	15	46	35	10	1
	20	24	18	6	
	25	11	10	1	
	30	12	10	2	
	35	5	4	1	
	40	13	13		
	45	2	2		
	50	4	2	1	1
	60	14	8	6	
	70	8	4	3	1
	80	11	9	2	
	90	4	2	2	
	100	2	1	1	
	110	4	2	2	
	120	2	2		
	130	2	2		
	140	7	3	4	
	150	7	3	4	
	160	4	2	1	1
	170				
	180				
	190	2	1	1	
	200	25	12	13	

Legende: ++ = starker Spirochaetenbefall.
 + = schwacher Spirochaetenbefall.
 -- = keine Spirochaeten nachweisbar.

a) Befall der Speicheldrüsen.

Bei den *Nymphen* gelingt der erste Erregernachweis in den Speicheldrüsen frühestens nach 3, im allgemeinen jedoch erst nach 4 Infektionstagen (vgl. Tabellen 8—10). Durch allmähliches Einwandern neuer Spirochaeten aus der Haemolympe wie auch infolge

TABELLE 9.

Befall der Speicheldrüsen von O. moubata.

Infiziert im:	Infektionsdauer in Tagen	Untersuchte Zecken	Befund		
			++	+	--
2. und 3. Nymphen- stadium	2	—	—	—	—
	3	14			14
	4	8		1	7
	5	8	2		6
	6	11	1	5	5
	7	12	4	6	2
	8	13	6	4	3
	10	19	13	6	
	15	24	10	12	2
	20	12	10	2	
	25	11	9	1	1
	30	4	3	1	
	35	4	4		
	40	2	1	1	
	45	2	1		1
	50	6	5	1	
	60	1	1		
	70	2	2		
	80	4	3	1	
	90	1	1		
	100	6	3	1	2
	110	1	1		
	120	2		1	1
	130	1	1		
	140	1		1	
	150				
	160	3	2	1	
	170				
	180				
	190	4	3	1	
	200	14	6	7	1

Legende: ++ = starker Spirochaetenbefall.
 + = schwacher Spirochaetenbefall.
 -- = keine Spirochaeten nachweisbar.

Vermehrung der sich in den Drüsen aufhaltenden Formen findet eine erhebliche Erregerzunahme statt. Das Drüsengewebe der Zecken des 1., 2. und 3. Stadiums weist schon nach 5—6, dasjenige der ältern Stadien nach 7 Tagen einen starken Befall auf (vgl. Abb. 11).

Die ersten in den Speichelorganen beobachtbaren Spirochaeten sind lange Formen von durchschnittlich 16 μ , sie weichen von jenen

TABELLE 10.

Befall der Speicheldrüsen von O. moubata.

Infiziert im :	Infektionsdauer in Tagen	Untersuchte Zecken	Befund		
			++	+	—
4. und 5. Nymphen- stadium	3	2			2
	4	6		1	5
	5	4		1	3
	6	3		1	2
	7	5	2	3	
	8	5	2	3	
	10	15	7	7	1
	15	14	10	1	3
	20	6	6		
	25	6	4		2
	30	1	1		
	35	3	1	2	
	40	1	1		
	45	3	1	2	
	50	2		2	
	60	1		1	
	70	1		1	
	80	1		1	
	90	2	1	1	
	100				
	110				
	120	1	1		
	130				
	140				
	150	2		2	
	160				
	170				
	180				
	190				
	200	5	3	1	1

Legende: ++ = starker Spirochaetenbefall.
 + = schwacher Spirochaetenbefall.
 — — = keine Spirochaeten nachweisbar.

im Darmlumen (15—17 μ) oder von jenen in der Haemolymphe (15—20 μ) anfänglich kaum ab. Erst mit zunehmender Infektionsdauer werden sie, infolge Teilungen in der Körperflüssigkeit wie auch in den Drüsen selbst, kleiner und messen nach 10 Tagen nur noch 10—12 μ (vgl. Tabelle 12). Neben vereinzelt Langformen werden nun mehrheitlich kurze, 8—12 μ lange Erreger gesichtet.

TABELLE 11.

Befall der Speicheldrüsen von O. moubata.

Infiziert im:	Infektionsdauer in Tagen	Untersuchte Zecken	Befund		
			++	+	--
Adulttiere ♂ + ♀	3	1			1
	4				
	5	5		1	4
	6	8	2	2	4
	7	10	2	1	7
	8	8	3	2	3
	10	6	2	2	2
	15	12	3	6	3
	20	9	1	4	4
	25	4	1	1	2
	30	7	2	2	3
	35				
	40	8	1	4	3
	45	8	1	6	1
	50	1	1		
	60	5	1	3	1
	70	7		5	2
	80	7	2	3	2
	90	2	2		
	100	2		2	
	110				
	120				
	130				
	140				
	150				
	160				
	170				
	180				
	190				
	200	6	1	2	3

Legende: ++ = starker Spirochaetenbefall.
 + = schwacher Spirochaetenbefall.
 -- = keine Spirochaeten nachweisbar.

Diese wachsen wiederum zu langen Spirochaeten aus und vermehren sich erneut durch einfache wie multiple Querteilungen.

In allen Nymphenstadien erweisen sich die Speicheldrüsen während der Kontrollzeit von über 200 Tagen als mehr oder weniger stark spirochaetenhaltig (vgl. Tabellen 8—10). Zecken des 1. Nymphenstadiums zeigen während dieser Zeit fast regelmäßig einen starken Befall; bei älteren Versuchstieren kann hingegen nach 50 Infektionstagen eine deutliche Abnahme der Infektionsstärke festgestellt werden.

Immer wieder finden sich auch Zecken, deren Speicheldrüsen völlig spirochaetenfrei sind. Ob diese jedoch schon von Anfang an negativ waren, oder ob die Spirochaeten erst mit zunehmender Infektionsdauer aus den Drüsen verschwunden sind, läßt sich nicht beurteilen.

TABELLE 12.

Längenmessungen der Spirochaeten in den Speicheldrüsen von Ornithodoros moubata.

a) 1. Nymphenstadium *.

Spirochaeten-länge im:	Infektionsdauer der Zecken (in Tagen)	Zahl der gemessenen Spirochaeten in der Speicheldrüse	Durchschnittslänge in μ
Mäuseblut	5	14	16,9
21,2 μ	7	154	12,2
Darmepithel	10	108	10,6
(nach 10 Tagen)	12	208	11,6
15,0 μ	16	72	13,1

* Haemolymphenkontrolle bei diesen kleinen Zecken nicht durchführbar.

b) 5. Nymphenstadium.

Spirochaeten-länge im:	Infektionsdauer der Zecken (in Tagen)	Haemolympe Spirochaeten		Speicheldrüse Spirochaeten	
		Zahl	Länge (in μ)	Zahl	Länge (in μ)
Mäuseblut	5	206	17,4	5	16,8
21,2 μ	7	203	14,5	196	12,0
	30	29	16,0	172	15,8

Bei den *Adultzecken* (vgl. Tabelle 11) ist die Infektion der Speicheldrüsen in erster Linie von der Vermehrungsintensität der Spirochaeten in der Haemolympe abhängig. Erfolgt in den ersten Infektionstagen eine starke Erregerzunahme, so können die Drüsen ebenfalls schon früh, d. h. nach 5—6 Tagen, infiziert sein. Findet

hingegen nur eine langsame, unbedeutende Erregerzunahme statt, so werden die Drüsen nur schwach oder überhaupt gar nicht befallen.

Wie bei den Nymphen sind es auch hier anfänglich vereinzelte, lange Spirochaeten, die im Drüsengewebe festgestellt werden können. Wohl kann durch das Eindringen neuer Erreger aus der Haemolympe die Infektionsstärke beträchtlich zunehmen, im Gegensatz zu den Nymphen aber findet bei der Mehrzahl der Adulttiere in den Speicheldrüsen nur eine unbedeutende Spirochaetenentwicklung statt. Die meisten Erreger verlassen die Organe bald wieder, so daß oft schon nach 20 Infektionstagen und vor allem später nur noch ein schwacher Drüsenbefall verzeichnet werden kann. Daß es aber auch unter den adulten Zecken immer wieder Tiere gibt, die noch nach längerer Infektionszeit in ihren Speicheldrüsen große Mengen Spirochaeten enthalten, geht aus der Tabelle 11 hervor. Solche Zecken treten jedoch im Vergleich zu jenen mit nur schwach positiven oder gänzlich negativen Sektionsbefunden seltener in Erscheinung. Ob es sich dabei um Zecken handelt, deren Speicheldrüsen schon von Infektionsbeginn an stark infiziert waren, läßt sich nicht aussagen. Die Beobachtung, wonach z. B. die Erreger in der Haemolympe durch erneute Blutaufnahme der Zecken zu starker Vermehrung aktiviert werden, berechtigt zur Annahme, daß auch in den einzelnen infizierten Organen eine vorübergehende Erregerzunahme stattfinden könnte.

Werden nun die erhaltenen Resultate mit jenen anderer Autoren verglichen, so ist teilweise eine Uebereinstimmung festzustellen. Es erwiesen sich die Speicheldrüsen der von KLEINE & ECKARD (1913), KLEINE & KRAUSE (1932) sowie FENG & CHUNG (1936) untersuchten Zecken ebenfalls als infektiös. In der Einleitung ist schon darauf hingewiesen worden, daß diese Autoren mit einer geringen Zahl von Zecken, über deren Alter sie jeweils nichts aussagen, gearbeitet haben. Einen eigentlichen Infektionsverlauf in den Speicheldrüsen haben sie nicht untersucht. Lediglich von FENG & CHUNG (1939) liegen einige Angaben vor. Nach diesen Forschern sind die Speicheldrüsen schon vom 4. Tage an infiziert und können dies, wie aus positiven Resultaten einzelner Uebertragungsversuche hervorgeht, noch nach längerer Zeit (116 Tage) sein.

Im Widerspruch stehen die eigenen Ergebnisse zu den Beobachtungen von KOCH (1906), LEISHMAN (1907—1920), FANTHAM (1911) und HINDLE (1911 a). Diese konnten in den Speicheldrüsen ihrer Zecken nie Spirochaeten, selten nur deren «Granulae» (LEISHMAN) feststellen.

In der von NICOLLE und Mitarbeitern (1930) publizierten Arbeit liegen keine eigentlichen Angaben über die Spirochaeteninfektion

der Speicheldrüsen vor. Auf Grund der bereits in der Einleitung (I, 4 b) wiedergegebenen Ergebnisse von Uebertragungsversuchen muß jedoch das Vorhandensein des Rückfallfiebererregers in diesem Organ angenommen werden. Gerade die interessante Beobachtung, wonach nur die Nymphenzecken, nicht aber die Adulttiere befähigt sein sollen, das Rückfallfieber durch den Biß zu übertragen, hätten die Autoren durch mikroskopische Untersuchungen der Speicheldrüsen belegen sollen. Nach den eigenen Versuchen zeigt es sich ja auch, daß die Drüsen der Nymphen gegenüber jenen der Adultzecken viel stärker infiziert werden. Ob nur Nymphen die Fähigkeit besitzen, die Spirochaeten durch den Biß zu übertragen, soll später eingehend geprüft werden.

Im Gegensatz zu NICOLLE und Mitarbeitern kommt BONÉ (1938 a, 1939 c) zum Schluß, daß der Speichel nie Spirochaeten enthalten könne. Seine Uebertragungsversuche verliefen alle negativ. Ob in den Drüsen überhaupt Spirochaeten vorhanden sind, geht aus seinen Untersuchungen nicht hervor.

b) Befall der Coxalorgane.

Sowohl bei Nymphen als auch bei geschlechtsreifen Adultzecken gelingt der erste positive Erregernachweis in den Coxalorganen frühestens nach 3, durchschnittlich erst nach 5—6 Infektionstagen, also kurz nach dem Erscheinen der Spirochaeten in der Haemolympe. Letztere dringen vorerst nur in das Gewebe des Filterorgans ein, vermehren sich darin sehr stark und befallen in der Folge auch die Zellwandungen des angrenzenden Filterkanals, in dessen Lumen sie vom 7./8. Infektionstage an festgestellt werden können. Die Vermehrung im eigentlichen Gewebe kann oft derart stark sein, daß sich ähnliche Knäuel und Zöpfe bilden, wie sie bereits schon in der Körperflüssigkeit beobachtet worden sind.

Im Gegensatz zu den Speicheldrüsen bleibt das Coxalorgan bei Nymphen und Adultzecken lebenslänglich infiziert und stellt ein Vermehrungszentrum von *Borrelia duttonii* dar (vgl. Abb. 12), aus welchem immer wieder Spirochaeten in die Haemolympe eindringen. Bei längerer mikroskopischer Beobachtung läßt sich einerseits das Auswandern der Spirochaeten in die Umgebungsflüssigkeit, andererseits aber auch das Eindringen der Erreger in die Organe verfolgen.

Die ersten im Filterorgan nachweisbaren Spirochaeten sind auch hier lange Formen, die jedoch sofort in Teilung treten, wodurch ihre durchschnittliche Länge (vgl. Tabelle 13) um einige μ abnimmt. Diese kleinen 5—10 μ messenden Erreger entwickeln sich allmählich wieder zu Langformen von oft mehr als 20 μ , aus welchen er-

neut durch einfache wie multiple Querteilungen kleine Spirochaeten entstehen. Man findet deshalb mit zunehmender Infektionsdauer im Coxalorgan neben eigentlichen, oft in Teilung begriffenen Langformen mehrheitlich kleine 5—10 μ messende Erreger.

Ganz anders verhalten sich jedoch die Spirochaeten im Lumen des Filterkanals, wo ihre Häufigkeit vom 7./8. Infektionstage an je nach Zecke mehr oder weniger stark zunimmt. Bei gewissen Formen ist die Fortbewegung ungewöhnlich langsam, scheinbar gehemmt; viele sind überhaupt inaktiv. Neben eigentlichen Langformen treten bei Zecken mit längerer Infektionszeit große Mengen kleiner 4—5 μ messender Spirochaeten auf. Handelt es sich bei diesen nur 2—3 Windungen aufweisenden Erregern etwa um die aus «Granulae» entstandenen Jungspirochaeten? Nähere Untersuchungen haben eindeutig gezeigt, daß diese Formen Abkömmlinge kleiner 8—10 μ messender, in Teilung begriffener Spirochaeten darstellen.

Zuweilen beobachtet man völlig starre Spirochaeten, deren Enden auf einer Länge von 3—4 μ propellerartige Bewegungen ausführen. Offenbar sind dies «Mutterspirochaeten», von denen einzelne Tochterfragmente im Begriffe sind, sich loszulösen.

TABELLE 13.

Spirochaetenmessungen, vergleichsweise in der Haemolympe und im Filterorgan des Coxalorgans.

Zecke Nr.	Infektionsalter (Tage)	H a e m o l y m p h e				F i l t e r o r g a n			
		a	b	c	d	a	b	c	d
1	5	208	16,2	10	21	230	14,3	9	28
2	7	203	14,5	8	21	289	12,4	5	22
3	11	166	12,1	7	21	65	11,0	6	21

Legende: a, b, c, d = Längenwerte in μ .
 a = Zahl der gemessenen Spirochaeten.
 b = durchschnittliche Länge der Spirochaeten.
 c = kleinste Spirochaetenform.
 d = längste Spirochaetenform.

Zu gleicher Zeit wie in das Filterorgan dringen die Spirochaeten auch in die *akzessorische Drüse* ein, in deren Alveolen, Sekretkanälchen und Ausführgängen sie anfänglich zahlreich nachgewiesen werden können (vgl. Abb. 13).

Mit zunehmendem Infektionsalter wird der Erregerbefall im allgemeinen etwas schwächer, bleibt aber je nach Zecke mehr oder weniger stark erhalten. Eine bedeutende Vermehrung infolge Teil-

lungen kann nicht beobachtet werden, die durchschnittliche Spirochaetenlänge bleibt deshalb auch ungewöhnlich hoch und beträgt, von Zecke zu Zecke verschieden, 14 bis 16 μ .

Außer HINDLE (1911 a) sind sich alle Autoren darin einig, daß das Coxalorgan infizierter Zecken infektiös ist. Ueber das zeitliche Eindringen der Spirochaeten liegt einzig von FENG & CHUNG (1936) eine Angabe vor, wonach die Coxalorgane ihrer Zecken schon vom 4. Infektionstage an befallen werden, eine Beobachtung, die mit den eigenen Resultaten übereinstimmt, sofern man bedenkt, daß sie sich auf eine geringe Zahl untersuchter Zecken stützt. Obwohl in den vorliegenden Versuchen ein besonderes Augenmerk auf die Vermehrung von *Borrelia duttonii*, sowohl in der Filterkammer als auch im Lumen des Filterkanals, gerichtet worden ist, konnten nie «granuläreähnliche» Gebilde als Ausgangspunkte neuer Spirochaeten gefunden werden. Die kleinsten beobachtbaren Erregerformen ließen sich jeweils eindeutig als Teilungsprodukte erkennen.

c) Die Infektion der Malpighischen Gefäße.

Für die nachfolgenden Untersuchungen wurden einerseits ältere Nymphen (4. und 5. Stadium), andererseits Adulttiere verwendet. Der Spirochaetennachweis in den Malpighischen Gefäßen mittels Dunkelfeldmikroskop erweist sich infolge der stark lichtbrechenden, granulösen Einschlüsse als unmöglich. Das Organ muß vorerst durch sorgfältiges Auspressen vom Gefäßinhalt befreit werden. Nur auf diese Weise gelingt es, Gefäßwandungen wie auch Inhalt mikroskopisch auszutesten.

Die ersten Spirochaeten dringen frühestens nach 4, im allgemeinen jedoch erst nach 10 Infektionstagen in die muskulöse Hüllschicht der Malpighischen Gefäße ein, wo sie sich während über 700 Tagen nachweisen lassen. Während in der Basalmembran hie und da einige wenige Erreger festzustellen sind, werden die eigentlichen Sekretionszellen nie befallen; die Gefäßflüssigkeit bleibt stets spirochaetenfrei (vgl. Abb. 5).

In der Wandung der Exkretionsorgane vermehren sich die Spirochaeten mit zunehmendem Infektionsalter durch einfache und multiple Querteilungen. Die Erregerzunahme kann oft derart stark sein, daß große Gewebeflächen wie «Spirochaetenteppiche» aussehen (vgl. Abb. 5, 14). In bezug auf ihre Länge weisen die Formen einen starken Polymorphismus auf; neben kleinen, 5—6 μ langen Spirochaeten finden sich große, 20—25 μ messende Erreger.

Schon mehrere Autoren haben sich, wie schon in der Einleitung erwähnt worden ist, mit dem Problem der Spirochaetenentwicklung in den Exkretionsorganen von *Ornithodoros moubata* auseinander-

gesetzt. Ihre Ansichten sollen nun den eigenen Beobachtungen gegenübergestellt werden.

Nach LEISHMAN, FANTHAM und HINDLE zerfallen bei niederen Temperaturen (21—25 Grad C) die Spirochaeten im Darm und lassen sich später nur noch in Form von «Granulae» oder «Chromatinkörnern» in den Organen, vor allem in den Malpighischen Schläuchen, nachweisen. Tritt eine Temperaturerhöhung ein, so sollen aus den «Granulae» neue Spirochaeten hervorgehen.

Wohl ist das Vorhandensein unzähliger «Granulae» sowohl in den Zellen der Gefäßwandung als auch in der Exkretionsflüssigkeit selbst nicht zu leugnen, vor allem dann nicht, wenn die Untersuchungen mit dem Dunkelfeldmikroskop durchgeführt werden. Diese

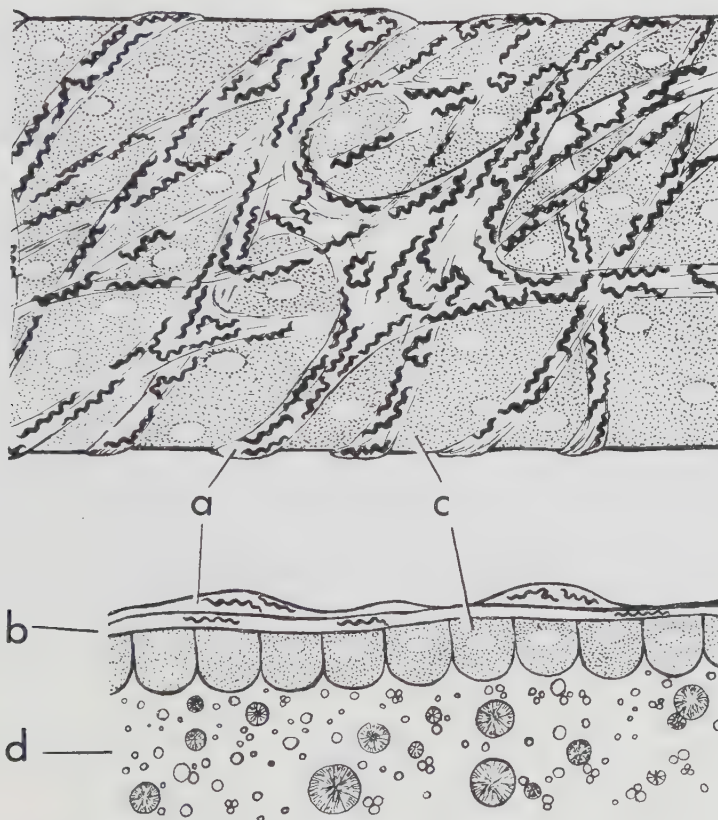


Abb. 5. Stück eines ausgepreßten Malpighischen Gefäßes in der Aufsicht (vgl. Abb. 14).

Das Schema veranschaulicht die Lagerung der Spirochaeten in der muskulösen Hüllschicht (a), zuweilen auch in der Basalmembran (b). Die Exkretzellen (c) wie auch die Gefäßflüssigkeit (d) sind spirochaetenfrei.

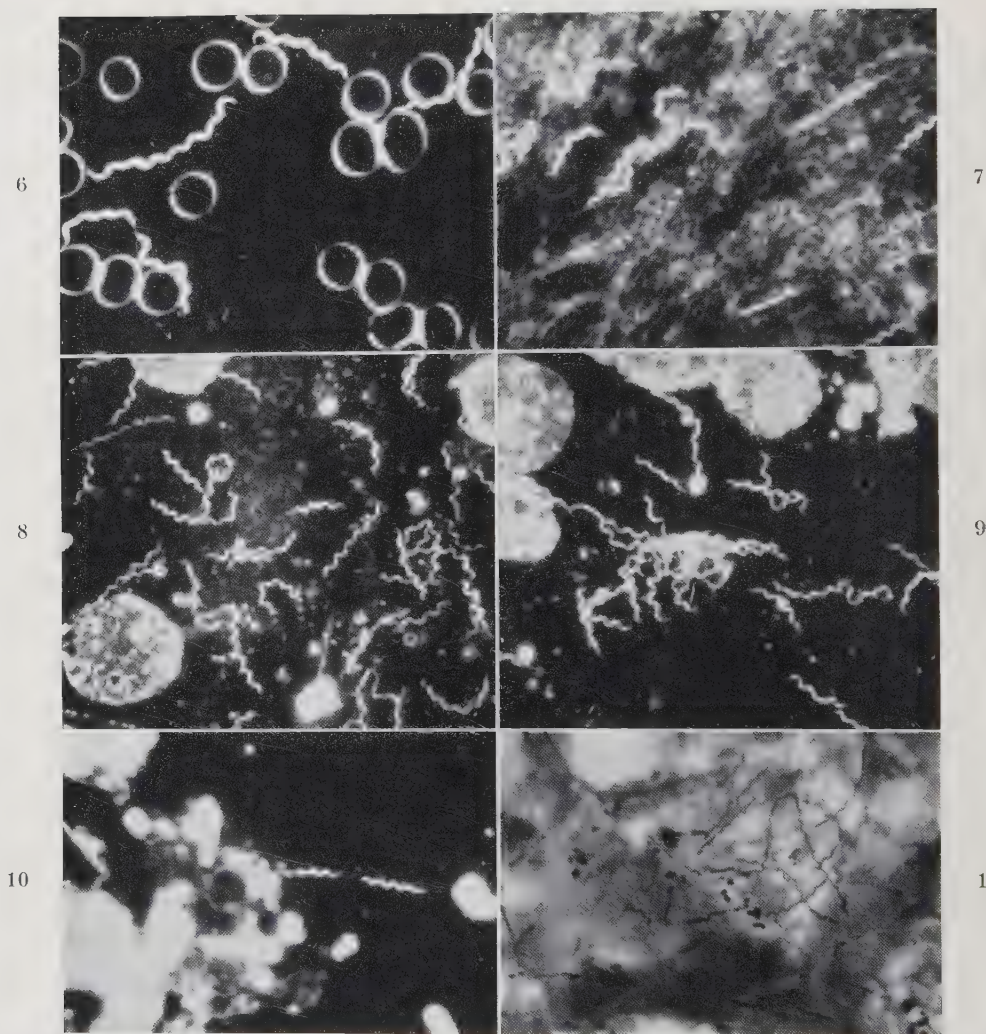


Abb. 6. *Borrelia duttoni* im Blut einer weißen Maus. Links unten erkennt man an der plasmatischen Einschnürung des Spirochaetenkörpers eine Teilungsform.

Abb. 7. Darmepithel einer infizierten Zecke nach 25 Infektionstagen.

Abb. 8. Starke Spirochaeteninfektion in der Haemolymphe einer Adultzecke nach 2 Tagen.

Abb. 9. Typischer Spirochaetenknäuel in der Haemolymphe.

Abb. 10. Teilungsform von *Borrelia duttoni*. Deutlich erkennbar das plasmafreie Zwischenstück der beiden Spirochaetenhälften.

Abb. 11. Stark infizierte Speicheldrüse einer Nymphenzecke nach 38 Infektionstagen.

Abb. 6—10. Dunkelfeldaufnahmen, 1000fache Vergrößerung.

(Abb. 11. Schnittpräparat, versilbert nach Levaditi, 1000fache Vergrößerung.)

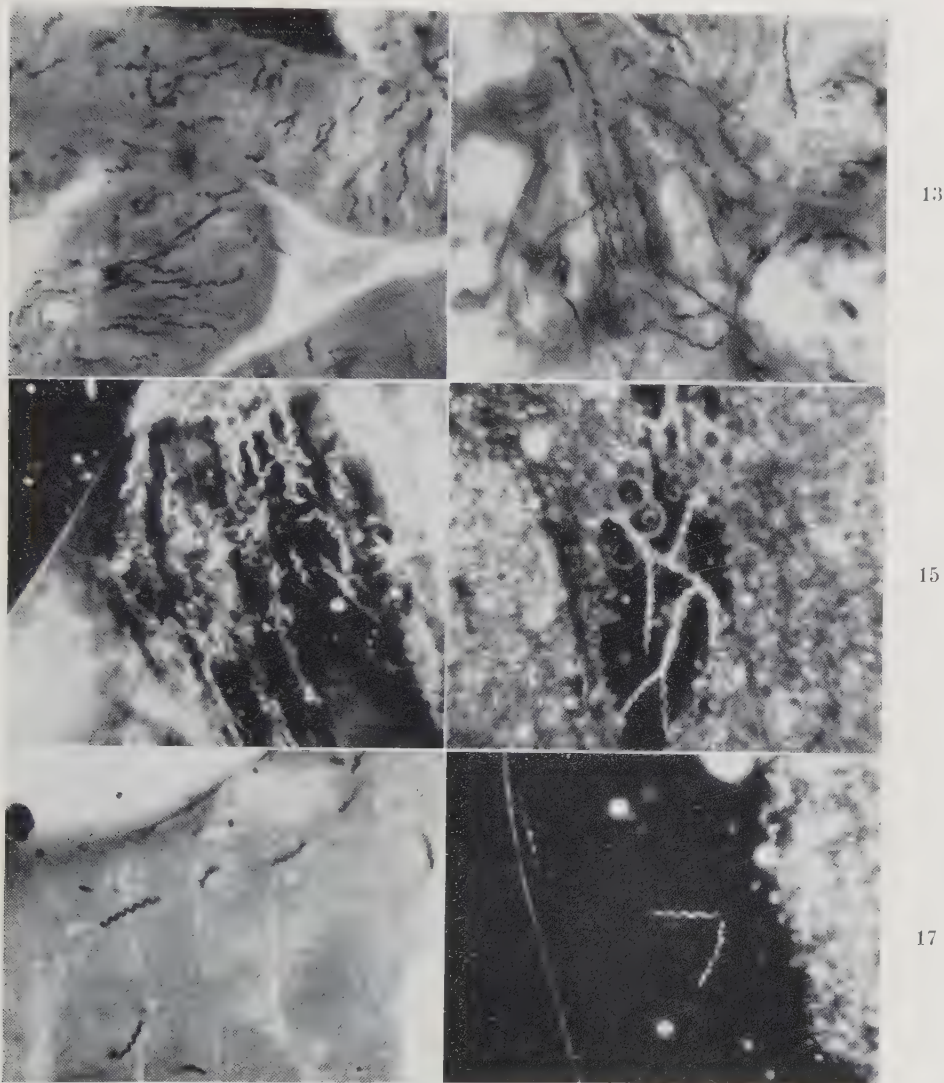


Abb. 12. Schnitt durch das Filter einer seit 523 Tagen infizierten Zecke.

Abb. 13. Schnitt durch die akzessorische Drüse der in Abb. 11 erwähnten Zecke.

Abb. 14. Ausgepreßtes Malpighisches Gefäß mit zahlreichen, in der Wandung sitzenden Spirochaeten.

Abb. 15. Quetschpräparat des Centralganglions einer seit 8 Tagen infizierten Adultzecke.

Abb. 16. *Borrelia duttonii* im Dotter eines Zeckeneies.

Abb. 17. Teilungsform von *Borrelia duttonii* in unreifem Zeckenei.

(Abb. 12, 13 und 16. Schnittpräparate, versilbert nach Levaditi, 1000fache Vergr.)

(Abb. 14, 15 und 17. Dunkelfeldaufnahmen, 1000fache Vergrößerung.)

sind jedoch, wie schon BONÉ (1939 c) gezeigt hat, auch in reinen Zecken festzustellen. Ein Austreten kleiner Spirochaeten aus solchen Gebilden konnte nie beobachtet werden. Morphologisch unterscheiden sich die in die Gefäßwand eingedrungenen Formen keineswegs von jenen bereits untersuchter Organe.

KLEINE & ECKARD (1913) sowie KLEINE & KRAUSE (1932) fanden in den Malpighischen Gefäßen ihrer Zecken ebenfalls Spirochaeten. Leider geben diese Autoren nicht an, ob die Erreger nur in der Gefäßwand oder auch im Gefäßlumen beobachtet werden konnten.

Diesen Resultaten gegenüber stehen nun die Befunde von FENG & CHUNG (1936) sowie von BONÉ (1939 c). Die erstgenannten Autoren konnten nur ausnahmsweise bei stark infizierten Zecken im Lumen der Malpighischen Gefäße vereinzelte Recurrenserreger finden. Normalerweise waren diese jedoch weder im Organgewebe noch in der Exkretionsflüssigkeit. Eigenartig ist, daß FENG & CHUNG in allen vorausgehend besprochenen Zeckenorganen ebenfalls Spirochaeten nachweisen konnten. Da auch sie ihre Beobachtungen mittels Dunkelfeld ausgeführt haben, wäre es denkbar, daß sie aus den eingangs dieses Kapitels erwähnten Gründen die Spirochaeten nicht gesehen haben.

BONÉ prüfte lediglich tierexperimentell die analen Ausscheidungen infizierter Zecken und erhielt dabei auch nur negative Ergebnisse.

d) Spirochaeten im Centralganglion.

Als ein weiteres Spirochaeten-Vermehrungszentrum im Körper von *Ornithodoros moubata* muß das Centralganglion betrachtet werden. Sowohl bei Nymphen wie auch bei Adulttieren wird dessen Gewebe nach durchschnittlich 5—6, frühestens vom 3. Tage an, befallen. Die Spirochaeten bohren sich von der Haemolympe aus in das Gewebe ein (vgl. Abb. 15), und es läßt sich schon nach 7 Tagen eine starke Anreicherung feststellen, die nicht nur auf das fortwährende Eindringen neuer Spirochaeten aus der Körperflüssigkeit, sondern auch auf intensive Vermehrung der Erreger im Organ selbst zurückzuführen ist.

Ueber die Längenverhältnisse der Spirochaeten im Centralganglion lassen sich ähnliche Beobachtungen wie in den bereits untersuchten Speicheldrüsen und Coxalorganen anstellen. Wiederum sind es anfänglich lange Formen, deren Größen infolge Teilungen abnehmen, so daß mit fortschreitendem Infektionsalter neben langen, oft in Teilung begriffenen Spirochaeten mehrheitlich kleine Erreger zu finden sind.

Das Ganglion kann jahrelang stark infiziert bleiben. Von 504 kontrollierten Zecken aller Altersstadien mit Infektionszeiten von 300 bis 750 Tagen wiesen deren 442 äußerst stark, nur deren 62 schwach infizierte Ganglien auf. Die Spirochaeten lassen sich im gesamten Gangliongewebe feststellen; Ansammlungen finden sich jedoch an den von der Haemolymph direkt umflossenen Außenpartien. Es darf angenommen werden, daß auch von hier aus die Erreger immer wieder in die Körperflüssigkeit zurückwandern, wo sie sich stark vermehren, vor allem nachdem die Zecken eine neue Blutmahlzeit zu sich genommen haben (vgl. Seite 218).

Ueber die Bedeutung des Centralganglions als Vermehrungsort von *Borrelia duttonii* finden sich in der Literatur einzig von FENG & CHUNG (1936) Angaben, die mit den eigenen Resultaten übereinstimmen. Auch sie stellten in diesem Organ schon nach 4 Tagen Spirochaeten fest.

e) Befall der Zeckeneier.

Schon an anderer Stelle ist auf die unter der Leitung meines Lehrers Prof. Dr. R. GEIGY zurzeit durchgeführte Arbeit über den Infektionsverlauf in den männlichen und weiblichen Geschlechtsorganen von *Ornithodoros moubata* hingewiesen worden. Im Hinblick auf die bestehenden Theorien über die Spirochaetenentwicklung in den Eiern ist es aber notwendig, die morphologischen Eigenschaften der Recurrenserreger im Ei von *Ornithodoros moubata* zu überprüfen, dies jedoch, ohne die einzelnen Etappen der Infektion weiter zu berücksichtigen.

Zu diesem Zweck wurden vorerst die *unreifen*, in den Follikeln des Ovars sich entwickelnden Eier untersucht. Sowohl in Nativ- als auch in versilberten Schnittpräparaten lassen sich jeweils nur normale Spirochaetenformen feststellen, die sich morphologisch von jenen anderer Organe nicht unterscheiden (vgl. Abb. 16 und 17).

Nicht alle Follikel sind spirochaetenhaltig, auch variiert die Befallsstärke beträchtlich. Neben mehrheitlich langen, oft in typischer Querteilung (vgl. Abb. 15) begriffenen Formen werden auch kurze, 5—6 μ messende Erreger gesichtet. Die gleichen Beobachtungen lassen sich auch in bereits *reifen* Eiern anstellen. In 2 Fällen gelang es, die Eier kurz vor Ablage aus dem Uterus herauszupräparieren und im Dunkelfeld auszutesten. Von 18 untersuchten Eiern der Zecke Nr. 1 erwiesen sich (vgl. Tabelle 14) deren 15, von 16 der Zecke Nr. 2 nur deren 5 als mehr oder weniger stark infiziert. Die Längen der jeweils kleinsten gemessenen Spirochaeten stimmen mit den in den Follikeln gefundenen Werten überein.

TABELLE 14.

Spirochaetennachweis in den Eiern von Ornithodoros moubata.

Zecken Nr.	Infektionsalter (in Tagen)	Ei Nr.	Spirochaeten- befall	Zahl der gefundenen Spirochaeten	Kleinste Spirochaete (in μ)
1	83	1	+	6	5
		2	+	5	12
		3	—		
		4	+	14	8
		5	+	22	8
		6	+	4	9
		7	+	31	5
		8	—		
		9	—		
		10	+	2	15
		11	+	15	10
		12	—		
		13	+	12	6
		14	+	49	6
		15	+	11	9
		16	—		
		17	+	2	18
		18	—		
2	121	1	—		
		2	—		
		3	—		
		4	—		
		5	+	10	11
		6	—		
		7	+	5	9
		8	+	38	6
		9	—		
		10	—		
		11	—		
		12	—		
		13	—		
		14	+	17	5
		15	—		
		16	+	20	8

Mit wenigen Ausnahmen können in allen Eigelegen von Zecken mit längeren Infektionszeiten ca. 40—60% Eier mit mehr oder weniger starkem Spirochaetenbefall gefunden werden (vgl. Tabelle 15).

TABELLE 15.

Spirochaetennachweis in den Eiern von O. moubata.

Zecken Nr.	Infektionsalter (in Tagen)	Zahl der unter- suchten Eier	Befund	
			+	—
3	78	24	18	6
4	85	48	23	25
5	80	26	15	11
6	113	31	12	19
7	73	22	—	22
8	101	63	34	29
9	160	39	21	18
10	168	40	12	28
11	116	35	16	19
12	96	24	10	14
13	190	52	33	19
14	105	32	—	32

Die Ansichten der verschiedenen Autoren über die Entwicklung der Recurrenserreger in den Eiern von *Ornithodoros moubata* sind schon erschöpfend (siehe Einleitung, I, 4 b) geschildert worden. Die von LEISHMAN und anderen verfochtene Granulationstheorie blieb durch die eigenen Untersuchungen unbestätigt, indem nie die Entwicklung von Spirochaeten aus granulaähnlichen Gebilden gesehen werden konnte. LEISHMAN, FANTHAM und HINDLE sind ja der Ansicht, daß die «Granulae», die sie vor allem in den Malpighischen Gefäßen vorfinden, via Eier auf die Nachkommenschaft übertragen werden und sich in den Zeckenembryonen wiederum in den Malpighischen Gefäßen nachweisen lassen. Gegen diese Theorie sprechen die Beobachtungen, wonach sowohl in den Eifollikeln als auch in den bereits abgelegten Eiern nur normale Erreger gefunden werden konnten. Sucht man nach kleinen, granulaähnlichen Körperchen, die (aber auch bei gesunden Zecken) via Eier auf die Nachkommenschaft übertragen werden und vor allem in den Malpighischen Gefäßen vorkommen, so findet man solche in Form der für die Zecken lebenswichtigen Symbionten, wie sie vor allem von P. BUCHNER (1951) beschrieben werden.

B. Experimentelle Untersuchungen über die Organ-Affinität und Temperaturabhängigkeit von *Borrelia duttonii*.

Die bisherigen Untersuchungen über den Verlauf der Spirochaeteninfektion in der Zecke haben gezeigt, daß sich *Borrelia duttonii* gegenüber den meisten Organen junger wie adulter Zecken gleich verhält. Einzig gegenüber den Speicheldrüsen konnte ein unterschiedliches Verhalten festgestellt werden, indem die Drüsen der Adultzecken im allgemeinen nur einen schwachen Erregerbefall aufweisen.

Im ersten Teil dieses Kapitels soll versucht werden, die Organ-Affinität der Spirochaeten experimentell zu prüfen.

Es ist schon früher darauf hingewiesen worden (siehe Seite 203), daß nach LEISHMAN und HINDLE die Spirochaetenentwicklung im Zeckenkörper weitgehend von der Temperatur abhängig sei. Werden die Tiere unter einer Temperatur von 25 Grad C gehalten, so zerfallen nach diesen Autoren die Spirochaeten innert der ersten 10 Infektionstage in granulöse Entwicklungsstadien. Diese sollen mit zunehmendem Infektionsalter vor allem in den Malpighischen Gefäßen, im Ovar und in den Coxalorganen zu finden sein und sich erst dann wieder zu typischen Spirochaeten entwickeln, wenn die Zecken in höhere Temperaturen gebracht werden. Werden die Zecken in Temperaturen über 25 Grad C gehalten, so findet nach LEISHMAN (1910) ein Zerfall in «Granulae» statt, aus welchen durch erneutes Auswachsen Jungspirochaeten hervorgehen.

Die bisherigen eigenen Untersuchungen wurden jeweils an in 30 Grad C gehaltenen Zecken vorgenommen. Ein Zerfall der Erreger in «Granulae» konnte nie beobachtet werden. Im zweiten Teil dieses Kapitels soll nun das Infektionsgeschehen im Zeckenkörper bei einer Temperatur von 20 Grad C verfolgt werden.

1. Das Verhalten von *Borrelia duttonii* gegenüber verschiedenen Zeckenorganen (Glaskapillarentest).

Um das Verhalten der Spirochaeten gegenüber gewissen Organen junger wie erwachsener Zecken zu prüfen, wurde der sogenannte Glaskapillarentest ausgearbeitet (vgl. Abb. 18 und 19). Dabei inspirierten wir uns an einer Methode, die LÜSCHER (1948) im Zusammenhang mit Regenerationsversuchen bei *Rhodnius prolixus* angewendet hat.

Die zu kontrollierenden Zeckenorgane (c) oder Teilstücke solcher werden mittels Glasstöpsel (b) in 1—2 cm lange dünne Glas-

kapillaren (a) eingeführt, und zwar so, daß sie etwa 1—2 mm hinter dem künftigen proximalen Kapillarenende zu liegen kommen, welches in den Zeckenkörper eingeschoben wird.

Die Haemolympe der infizierten Zecke strömt nun in das kurze Kapillarenende ein. Nach 2—3tägiger Versuchszeit werden die Kapillaren herausgezogen und die Organe im Dunkelfeld auf einen eventuellen Spirochaetenbefall untersucht.



Abb. 18. In Plastilin eingebetteter *Ornithodoros moubata* mit eingeführter Glaskapillare. Vergrößerung 8fach.

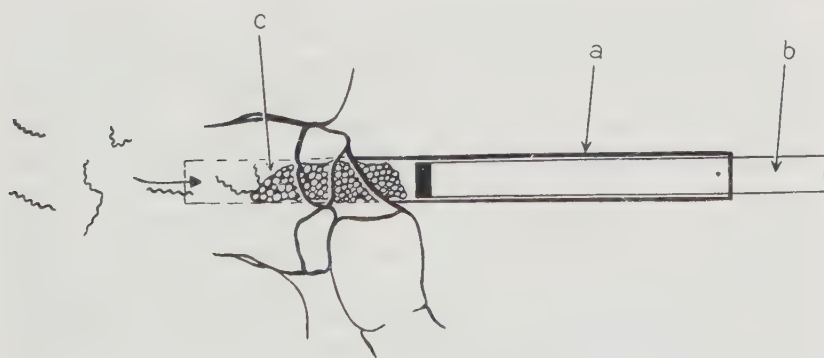


Abb. 19. Schematische Darstellung einer durch die Coxa in die Leibeshöhle von *Ornithodoros moubata* eingeführten Glaskapillare.

a = Kapillare, b = Glasstöpsel, c = Testorgan (Speicheldrüse).

Auf diese Weise ist es möglich, den Spirochaeten in der Haemolympe verschiedene reine Zeckenorgane vorzulegen und zu prüfen, ob sich die Erreger darin ansiedeln und vermehren. Dabei konnten folgende Resultate erzielt werden:

Versuch a:

Es werden vorerst je eine uninfizierte Speicheldrüse, je ein Centralganglion, bzw. je ein Filterteil eines Coxalorgans *junger Zecken* (2. und 3. Nymphenstadium) in die Kapillare eingeführt. Wie aus Tabelle 16 hervorgeht, weisen diese nach 2 Tagen in fast allen Versuchen einen mehr oder weniger starken Spirochaetenbefall auf.

Versuch b:

Werden die Organteile *adulter Zecken* ausgetestet, so dringen die Spirochaeten aus der Haemolympe wohl in die Centralganglien und Coxalorgane ein, nicht aber in die Speicheldrüsen.

Versuch c:

In dieser Versuchsanordnung werden nun pro infizierte Adultzecke zwei Kapillaren eingeführt. In der einen befindet sich die Speicheldrüse einer Nymphe, in der anderen diejenige eines geschlechtsreifen Adulttieres. Obwohl bei diesen Versuchen sehr viele Zecken infolge Verletzung des Darmsackes eingehen, zeigen einige wenige Resultate doch deutlich eine Uebereinstimmung mit den in Versuch «a» und «b» erzielten Befunden. Wiederum werden nur die Speicheldrüsen der Jungzecken, nicht aber jene der Adultzecken infiziert.

Diese experimentellen Befunde bestätigen in eindrucklicher Weise die in den vorhergehenden Kapiteln festgestellte Affinität der Spirochaeten gegenüber den Zeckenorganen. Die Speicheldrüsen der Adultzecken wirken weniger attrahierend auf die Spirochaeten als jene der Nymphen. Dies führt zur Vermutung, daß es sich hier um chemische Vorgänge handelt, indem gewisse Organe Stoffe enthalten bzw. in die Haemolympe abgeben, die auf die Spirochaeten eine anziehende Wirkung ausüben. Von diesen vorläufig noch unbekannten Stoffen würde dann wahrscheinlich die Intensität der Ansiedlung und Vermehrung der Erreger in den Organen abhängen. Das unterschiedliche Verhalten der Spirochaeten gegenüber den Speicheldrüsen ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß mit zunehmendem Entwicklungsalter der Zecken die erwähnten Stoffe in diesem Organ nur noch in kleinen Mengen vorhanden sind, so daß die Erreger die Drüsen überhaupt nicht oder nur vorübergehend befallen.

TABELLE 16.

*Zusammenstellung der mit dem Glaskapillarentest erzielten Versuchsergebnisse.**Versuch a:**Organe von Nymphen (2. u. 3. Stadium) in die Kapillaren eingeführt.*

<i>Speicheldrüsen</i>		<i>Centralganglion</i>		<i>Coxalorgan</i>	
Versuch Nr. ⁵	Befund	Versuch Nr.	Befund	Versuch Nr.	Befund
2	++	11	++	16	—
4	+	12	++	17	+
5	—	14	—	19	++
6	+	15	+	20	+ ^a
9	++			23	(+)
10	++				

*Versuch b:**Organe von Adultzecken in die Kapillaren eingeführt.*

<i>Speicheldrüsen</i>		<i>Centralganglion</i>		<i>Coxalorgan</i>	
Versuch Nr.	Befund	Versuch Nr.	Befund	Versuch Nr.	Befund
24	(+)	30	+	34	—
25	—	31	++	36	++
26	—	33	(+)	37	+
28	—			38	++

*Versuch c:**Speicheldrüsen von Nymphen und Adulttieren in die Kapillaren eingeführt.*

<i>N y m p h e n speicheldrüsen</i>		<i>A d u l t speicheldrüsen</i>
Versuch Nr.	Befund	Befund
1	+	(+)
4	++	—
6	—	—
7	+	—

Legende: (+) = nur vereinzelte inaktive Spirochaeten sichtbar.
 + = weniger als 10 aktive Spirochaeten sichtbar.
 ++ = mehr als 10 aktive Spirochaeten sichtbar.

⁵ Fehlende Versuchsnummern beziehen sich auf Zecken, die wegen Verletzungen eingegangen sind.

Es müßte eine besondere analytische Methode angewendet werden, um näheres über diese Stoffe und ihre Wirkungsweise zu erfahren.

2. Temperaturabhängigkeit von *Borrelia duttonii*.

Für die Temperaturversuche wurden je 150 Zecken des 1. und 2. Nymphenstadiums an Mäusen (deren Blutbilder bei 540facher Vergrößerung pro Blickfeld durchschnittlich 5 Spirochaeten enthielten) infiziert und bei 20 Grad C gehalten. Wiederum gaben die Befunde täglich sezierter Tiere Auskunft über das Schicksal der Recurrenserreger im Zeckenkörper.

Die aufgenommenen Spirochaeten lassen sich im Vergleich zu jenen bei 30 Grad C schon in der Darmfüllung durch eine stark *verminderte Aktivität* charakterisieren. Neben zahlreichen entwicklungsunfähigen abgestorbenen Individuen halten sich die schwach beweglichen Formen lange im Darmlumen auf und sind noch nach 35 Tagen darin nachzuweisen. Vom 3. Infektionstage an lokalisieren sich die aktiven Spirochaeten an der Darmwand, können jedoch erst nach 6 Tagen im eigentlichen Darmepithel gesichtet werden (statt in 2 Tagen bei 30 Grad C). Morphologisch treten keine nennenswerten Abweichungen von den bisher untersuchten Formen auf.

Der erste Spirochaetennachweis in den Zeckenorganen ist erst vom 13. Tage an möglich. Diese Beobachtung zeigt deutlich, daß die Erreger bei 20 Grad C infolge ihrer geschwächten Beweglichkeit eine längere Zeit brauchen, um durch die Darmschichten in die Körperhöhle der Zecken zu gelangen.

Bis zum 22. Tage bleiben die Organe nur schwach infiziert; erst von diesem Zeitpunkt an kann eine starke Spirochaetenzunahme beobachtet werden. Diese ist einerseits auf Teilungen in der Haemolympe und in den Organen selbst, andererseits auf das Freiwerden neuer Formen aus dem Darmepithel zurückzuführen.

Weder im Darm, noch in den ausgetesteten Cerebralganglien, Speicheldrüsen und Coxalorganen konnten «Granulae» festgestellt werden. Ein gänzliches Verschwinden der Spirochaeten nach 10 Infektionstagen war nie zu beobachten. Während der 45tägigen Kontrollzeit konnten, neben immer wieder auftretenden Spirochaetenleichen, nur typische «zapfenzieherartige» Erreger gefunden werden. *Die niedrigere Temperatur bewirkt lediglich eine erhebliche Inaktivierung der Spirochaeten und dadurch logischerweise auch einen verlangsamten Ablauf der Teilungen und des Infektionsgeschehens im Zeckenkörper.*

Schon FENG & CHUNG (1938) haben die Wirkung tiefer Temperaturen (sie hielten die Zecken in einem Kühlschrank von 5—8 Grad C) auf die Spirochaeten im Zeckenkörper untersucht, konnten jedoch das Auftreten von «Granulae» als Entwicklungsformen von *Borrelia duttonii* auch nicht bestätigen. Eigenartig ist aber, daß diese Autoren eine Verzögerung des Infektionsverlaufes nur im Darmlumen, in welchem die Spirochaeten bis zum 65. Tage nachzuweisen waren, feststellen konnten. Im Gegensatz zu unsern Resultaten konnten FENG & CHUNG hingegen schon vom 2. Tage an im Cerebralganglion, vom 5. Tage an in den Speicheldrüsen und vom 8. Tage an in den Coxalorganen Recurrenserreger beobachten.

III. DIE VERSCHIEDENEN MÖGLICHKEITEN DER UEBERTRAGUNG VON SPIROCHAETEN DURCH ORNITHODORUS MOUBATA.

Für die Uebertragung von *Borrelia duttonii* auf den Warmblüter sind theoretisch 3 Wege möglich.

1. Die Uebertragung durch die zuweilen noch auf dem Warmblüter durch den After ausgeschiedenen *Exkrete der Malpighischen Gefäße*.

2. Die Uebertragung via *Speicheldrüsensekret*.

3. Die Uebertragung durch die zwischen den Coxen des ersten und zweiten Beinpaares beidseitig aus einem Porus ausfließende *Coxalflüssigkeit* (vgl. Abb. 2 und 4). Dabei besteht die Alternative, daß die Spirochaeten durch die Bißwunde oder durch die unverletzte Haut eindringen.

A. Die Uebertragung durch die Exkrete der Malpighischen Gefäße.

Bei der Untersuchung des Infektionsverlaufes in den Malpighischen Gefäßen (Kap. II, A, 3 c) hat es sich gezeigt, daß die Spirochaeten nie in das eigentliche Gefäßlumen eindringen. Das Ausscheiden infektiöser Exkrete ist somit unmöglich. Um dies auch experimentell zu bestätigen, wurden die aus den Malpighischen Gefäßen, bzw. aus den Rectalampullen ausgeschiedenen Exkrete sowohl mikroskopisch als auch im Mäuseversuch kontrolliert. Durch Druck mittels erwärmten Glasstabes auf die Ventralseite der infi-

zierten Zecken wurde das Ausscheiden der weißlichen, Konkremeente enthaltenden Flüssigkeit provoziert. Diese wurden alsdann einerseits im Dunkelfeld ausgetestet, andererseits sofort mit Natriumcitratlösung verdünnt und weißen Mäusen intramuskulär injiziert. Mikroskopisch wurden die analen Ausscheidungen von mehr als 100, im Mäuseversuch jene von 23 stark infizierten Zecken ausgetestet. Auf keine der erwähnten Untersuchungsarten ist es jedoch gelungen, Spirochaeten nachzuweisen, so daß für die Uebertragung des Rückfallfiebers durch die Zecke *Ornithodoros moubata* dieser Weg nicht in Frage kommt.

B. Die Uebertragung durch das Sekret der Speicheldrüsen.

Wie in Kapitel II, A, 3 a festgestellt, weisen vor allem die Speicheldrüsen der in den Nymphenstadien infizierten Zecken einen lang andauernden Spirochaetenbefall auf, während diejenigen der Adulttiere nur vorübergehend und im allgemeinen eher schwach infiziert sind.

Sind solche Zecken nun imstande, das afrikanische Rückfallfieber durch den Biß allein, d. h. via Speichel auf den Warmblüter zu übertragen?

Um dies zu untersuchen, wurden ca. 500 Zecken im ersten, 300 im dritten und je 200 im vierten und fünften Nymphenstadium, sowie 200 Adultzecken infiziert (vgl. Seite 196).

Nach Wartezeiten von 9—600 Tagen wurden die Zecken in verschiedener Zahl weißen Mäusen angesetzt. Sobald ein deutliches Anschwellen des Zeckenkörpers die Blutaufnahme und damit auch die Speichelabgabe bestätigt, entfernt man die Zecken, um die Abgabe der Coxalflüssigkeit auf den weißen Mäusen zu verhindern. Tägliche Kontrollen des Mäuseblutes vom 3. bis 25. Tage erteilen Auskunft über eine eventuell stattgefundene Spirochaetenübertragung.

Im Gegensatz zu den Befunden anderer Autoren (vgl. Kapitel I, 4 b) erwiesen sich in insgesamt 155 durchgeführten Versuchen alle Entwicklungsstadien von *Ornithodoros moubata* imstande, die Spirochaeten via Speichel zu übertragen. Die in Tabellen 17—21 zusammengestellten Resultate stimmen wiederum auffallend mit den Ergebnissen über den Infektionsverlauf in den Speicheldrüsen überein. Die Fähigkeit, das Rückfallfieber durch den Biß allein, d. h. via Speichel zu übertragen, kommt vorwiegend den Nymphen zu. Daß auch mit geschlechtsreifen Adulttieren hie und da positive Resultate erzielt werden können, war zu erwarten, schon deshalb, weil ja immer wieder unter diesen solche mit stark infizierten Speicheldrüsen zu finden waren.

TABELLE 17.

Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.

a) Zecken infiziert im 1. Nymphenstadium.

Spirochaeten- stamm	Zahl der saugen- den Zecken	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
«Nairobi»	2	9	+	6
	5	9	+	6
	10	9	+	6
	15	9	+	5
	10	11	+	5
	2	12	+	5
	5	12	+	6
	10	12	+	5
	2	14	+	6
	2	14	—	
	3	14	+	5
	3	14	+	17
	3	14	—	
	5	14	+	7
	4	14	+	5
	10	14	+	5
	12	14	+	7
	30	14	+	8
	5	16	+	6
	10	16	—	
	2	18	—	
	5	18	—	
	10	18	+	5
	10	20	+	6
	10	20	—	
	4	21	+	5
	30	21	+	6
	30	21	+	6
	40	21	+	5
	10	24	+	5
	35	28	+	6
	35	28	—	
	30	52	—	
	20	60	—	
	5	62	+	5
	15	72	+	5
	10	84	+	5
	20	87	+	6
	9	158	+	6

TABELLE 18.

Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.

b) Zecken infiziert im 3. Nymphenstadium.

Spirochaeten- stamm	Zahl der saugen- den Zecken	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
«Nairobi»	10	15	+	5
	15	15	+	5
	3	20	+	8
	10	20	+	8
	10	20	+	12
	5	20	+	11
	7	20	+	8
	3	24	—	
	5	24	+	8
	10	24	+	10
	10	26	+	5
	20	26	+	5
	20	31	+	4
	20	31	+	4
	5	60	—	
	10	60	—	
	12	60	—	
	5	61	—	
	5	63	—	
	5	75	—	
	10	76	+	11
	25	80	+	5
	10	84	+	6
	5	88	+	5
	5	88	+	5
	3	92	—	
	5	92	—	
	10	92	—	
	5	139	+	6
	10	140	—	
	15	148	—	
	10	160	+	6
	10	160	—	
	4	189	+	6
	6	196	+	5
	4	250	—	
	7	269	—	

TABELLE 19.

*Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.**c) Zecken infiziert im 4. Nymphenstadium.*

Spirochaeten- stamm	Zahl der saugen- den Zecken	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
«Nairobi»	3	14	+	6
	4	14	+	5
	7	14	+	5
	12	14	+	7
	30	14	+	7
	3	18	—	
	5	18	+	6
	5	18	+	8
	5	64	+	5
	5	68	+	5
	2	105	—	
	5	105	—	
	10	111	+	7
	10	111	+	5
	10	111	—	
	5	127	—	
	10	132	—	
	5	137	—	
	3	144	—	
	9	144	—	
	5	223	—	
	10	223	—	
	15	225	—	
	10	225	—	

Diese Beobachtung weist eindeutig darauf hin, daß die Uebertragung durch den Biß von der Intensität des Speicheldrüsenbefalles abhängig ist. Zecken mit schwach befallenen Speichelorganen (dies ist vor allem bei den Adulttieren der Fall) sind nicht in der Lage, die Infektion via Speichel zu übertragen. Zweifellos gelangen aber auch von solchen Zecken vereinzelte Spirochaeten in den Warmblüter. Die Tatsache, daß letztere aber nicht an *Recurrents* erkranken, läßt vermuten, daß für die Infektion der Tiere eine bestimmte Erregermenge notwendig ist.

Obwohl in keiner Versuchsserie regelmäßig positive Ergebnisse erzielt werden konnten, gelang die Uebertragung, ganz unabhängig von der Zahl der saugenden Zecken, am häufigsten während einer 4—5monatigen Infektionsdauer, eine Zeitspanne, in der die Tiere

TABELLE 20.

*Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.**d) Zecken infiziert im 5. Nymphenstadium.*

Spirochaeten- stamm	Zahl der saugen- den Zecken	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
«Nairobi»	10	15	+	5
	20	15	+	5
	20	15	+	6
	5	22	+	7
	5	22	—	
	3	43	+	6
	5	50	+	5
	10	50	+	6
	10	76	—	
	3	100	+	6
	8	112	—	
	8	198	—	
	6	240	—	
	5	265	+	11
	30	454	—	

auch in der Natur wiederholt Blut aufnehmen und dabei das Rückfallfieber übertragen können.

Der erste Erregernachweis im Blut natürlich infizierter Mäuse gelingt in der Regel nach einer 4- bis 8tägigen, selten mehr als 10-tägigen Inkubationszeit. Im Verlaufe der Untersuchungen hat es sich aber gezeigt, daß die Blutkontrolle, auch wenn längere Zeit durchgeführt, zu falschen Resultaten führen kann. Die Tatsache, daß immer wieder Versuchsmäuse, in deren peripherem Blut keine Spirochaeten zu finden waren, eingingen, hat mich bewogen, kurz vor Exitus solcher Tiere deren Leber zu Suspensionen zu verarbeiten und gesunden Mäusen intraperitoneal zu injizieren.

In 12 Fällen ist es auf diese Weise gelungen, im Blut der frisch geimpften Mäuse nach 5- bis 7tägiger Inkubationszeit Spirochaeten nachzuweisen. Demnach können die Warmblüter während längerer Zeit Spirochaenträger sein, ohne daß das periphere Blut befallen wird (vergleiche R. GEIGY & W. BURGDORFER [1951]).

Von dieser Beobachtung ausgehend wurde nun auch untersucht, wann die ersten Spirochaeten in der Mäuseleber festzustellen sind. Dabei hat es sich gezeigt, daß die Recurrenserreger bei natürlicher wie auch experimenteller Injektion schon nach 24 Stunden in die

TABELLE 21.

*Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.**e) Zecken infiziert im Adultstadium.*

Spirochaeten- stamm	Zahl der saugen- den Zecken	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
« <i>Nairobi</i> »	4	9	—	
	5	9	—	
	1	10	—	
	3	12	—	
	1	14	—	
	1	14	+	5
	3	14	+	6
	7	14	+	5
	5	20	—	
	5	20	—	
	3	30	—	
	3	30	—	
	10	30	—	
	5	50	—	
	3	51	—	
	7	51	—	
	10	51	—	
	4	67	—	
	9	115	—	
	3	119	—	
	5	130	—	
	2	130	—	
	5	135	—	
	5	160	+	6
	2	160	—	
	8	175	+	6
	5	175	—	6
	4	189	+	6
	3	190	—	
	6	190	—	
	6	199	+	6
	5	212	—	
	3	220	—	
	4	251	—	
	3	618	—	

Leber gelangen und von hier aus erst nach mehreren Tagen das periphere Blut befallen ⁶.

⁶ Ueber diese Untersuchungen wird in einer späteren Publikation berichtet werden.

Für die bisher beschriebenen Uebertragungsversuche wurde ausschließlich der Laboratoriumsstamm «*Nairobi*» verwendet. Kontrollversuche (vgl. Tabelle 22) mit andern Spirochaetenstämmen (vgl. Seite 195) führten zu keinen abweichenden Resultaten, indem auch diese via Speichel auf den Warmblüter übertragen wurden.

TABELLE 22.

Uebertragungsversuche ohne Abgabe der Coxalflüssigkeit.

f) *Kontrollversuche mit anderen Spirochaetenstämmen.*

Spirochaetenstamm	Zahl der Zecken	Alter	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
«Ifakara»	2	adult	?	+	6
	3		?	+	5
«Mkasu»	3	2. Ny.	21	+	5
	5		21	+	6
«Itete»	5	4. Ny.	15	+	5

C. Die Uebertragung durch die Coxalflüssigkeit.

Nach den Befunden über den Infektionsverlauf im Coxalorgan (siehe Kapitel II, A, 3 b) stellt dieses sowohl bei Nymphen als auch bei Adultzecken ein stark befallenes Zeckenorgan dar. Ob die während einer Blutmahlzeit ausgestoßene Coxalflüssigkeit überhaupt Spirochaeten enthält, soll nun vorerst untersucht werden. Zu diesem Zweck nimmt man die an Mäusen saugenden Zecken kurz vor Abgabe der Coxalflüssigkeit weg und legt sie auf einen Objektträger. Nach einer Wartezeit von 5—10 Minuten beginnt das Ausfließen der Coxalflüssigkeit, die tropfenweise aufgenommen und im Dunkelfeldmikroskop untersucht werden kann.

In Uebereinstimmung mit BONÉ's Befunden (1939 a, 1939 c) weisen vor allem nur die ersten Coxaltropfen viel Spirochaeten auf; je mehr Flüssigkeit ausgestoßen wird, um so mehr erschöpft sich der Erregergehalt. Zudem konnte festgestellt werden, daß die Menge der ausgeschiedenen Spirochaeten bei gleichaltrigen und unter gleichen Bedingungen infizierten Zecken großen Schwankungen unterworfen ist. Einerseits gibt es Tiere, in deren Coxalflüssigkeit sehr viele aktive Erreger gefunden werden können, andererseits aber finden sich auch solche, die mehrheitlich inaktive, abgestorbene

Formen ausscheiden. Diese letzte Beobachtung gilt vor allem für Zecken mit langen Infektionszeiten.

Morphologisch lassen sich die ausgestoßenen Spirochaeten etwa mit den im Filterkanal des Coxalorgans gefundenen Formen vergleichen. Neben langen, oft in Teilung begriffenen Erregern kommen mehrheitlich kleine, 4—5 μ messende Spirochaeten vor.

Werden die Zecken kurz nach der Coxalflüssigkeitsabgabe seziiert und ihre Ausscheidungsorgane mikroskopisch untersucht, so findet man im Gewebe der Filterkammer, in den Wandungen des Filterkanals wie auch in der akzessorischen Drüse einen normalen, starken Spirochaetenbefall — im Lumen des Filterkanals hingegen sind nur noch wenig Rückfallfiebererreger nachzuweisen.

Bei den ausgeschiedenen Spirochaeten handelt es sich demnach zweifellos um die je nach Zecke mehr oder weniger häufig im Lumen des Filterkanals vorkommenden Formen. Die ruckartig durch den Filter- und Ausführkanal ausgestoßene Coxalflüssigkeit schwemmt diese aktiven wie inaktiven Erreger mit. Es wird nun auch verständlich, weshalb nur die ersten Coxaltropfen jeweils am meisten Spirochaeten enthalten; je mehr Flüssigkeit ausgeschieden wird, um so geringer ist die Zahl der Spirochaeten, die noch mitgeführt werden können. Ungeklärt bleibt die Frage, ob auch aus den ihrer Funktion nach unbekannten akzessorischen Drüsen Erreger in den Ausführkanal gelangen.

Nachdem wir nun wissen, daß die Coxalflüssigkeit infektiös ist, bleibt noch die Frage zu erörtern, wie die Spirochaeten in den Warmblüter hineingelangen. In erster Linie erfolgt die Infektion dadurch, daß die Coxalflüssigkeit, die zuweilen als Tropfen beiderseits unter dem Zeckenkörper hervorquillt (vgl. Abb. 2 und 20 D), mit der Bißstelle in Berührung kommt und sich mit dem aus dem Einstichkanal ausfließenden Blut mischt. Die Spirochaeten können dabei in die Bißstelle gelangen und auf diese Weise den Warmblüter infizieren.

Im weiteren wird nun aber für die Recurrensübertragung eine erstmals von MANTEUFEL (1907) beschriebene Beobachtung verantwortlich gemacht, wonach die Spirochaeten allgemein die Fähigkeit besitzen sollen, durch die unverletzte Haut eindringen zu können. Diese *percutane Infektionsmöglichkeit* soll im folgenden für den Fall der spirochaetenhaltigen Coxalflüssigkeit untersucht werden.

Vorerst wurden einige Kontrollversuche mit infiziertem Mäuseblut an kurz geschorenen Mäusen, Ratten und einem Affen (*Cercocebus galericus agilis*) durchgeführt. Um zu verhindern, daß die Spirochaeten durch kleine, beim Schneiden der Haare entstandene Epithelverletzungen eindringen können, wurden die genannten Tiere jeweils erst 3 Tage später für die Versuche verwendet. Eine

TABELLE 23.

Untersuchung der percutanen Infektionsmöglichkeit durch Aufträufeln infizierten Blutes auf verschiedene Versuchstiere.

Versuchstier	Nr.	Zahl der Spirochaeten pro mikroskopisches Blickfeld (Vergr. 540×)	Befund der Tiere nach Tagen	
<i>Mäuse</i>	1	6	+	4
	2		+	5
	3		+	5
<i>Ratten</i>	4		—	
	5		+	5
	6		+	6
<i>Affe</i>	7		—	
			.	
			—	
<i>Mäuse</i>	8	3	—	
	9		+	5
	10		+	8
<i>Ratten</i>	11		+	5
	12		—	
	13		—	
<i>Mäuse</i>	14	0/1	—	
	15		+	7
	16		—	
<i>Ratten</i>	17		—	
	18		—	
	19		—	

annähernd gleich große Menge infektiösen Blutes wurde auf die geschorene Bauchseite der Tiere geträufelt und trocknen gelassen.

Sowohl bei Mäusen als auch bei Ratten, nicht aber beim Affen, konnte festgestellt werden, daß die Spirochaeten durch die unverletzte Haut eindringen und nach 4—5tägiger Inkubationszeit im peripheren Blut nachgewiesen werden können (vgl. Tabelle 23). Die Infektion kann auch dann noch gelingen, wenn nur schwach infiziertes Blut auf die Haut gebracht wird.

Somit bestätigt sich die Möglichkeit der percutanen Infektion, und es wurden nun die gleichen Versuche mit infizierter Coxalflüssigkeit durchgeführt.

Wiederum wurden hungrige infizierte Zecken an weißen Mäusen angesetzt, kurz vor der Coxalflüssigkeitsabgabe weggenommen

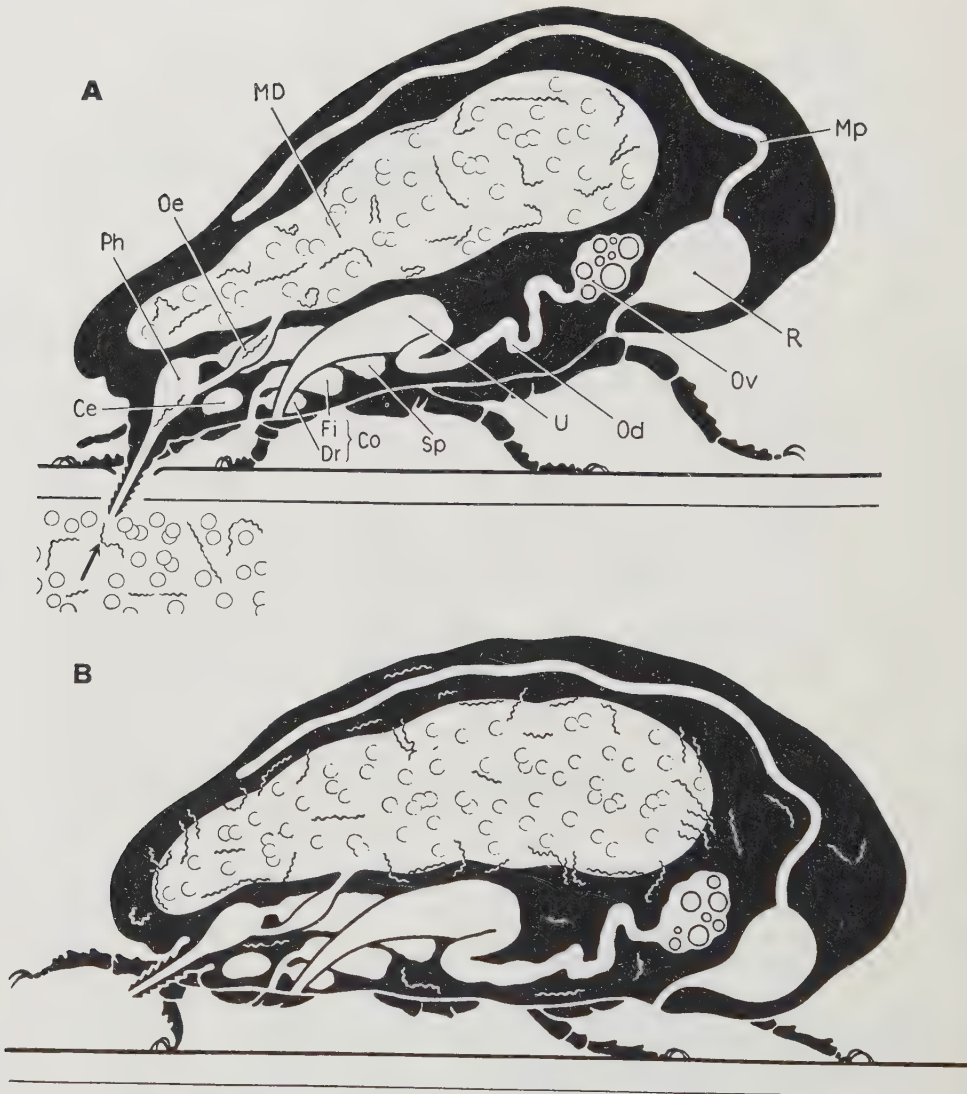
TABELLE 24.

Untersuchung der percutanen Infektionsmöglichkeit durch Aufträufeln infizierter Coxalflüssigkeit auf die Bauchhaut weißer Mäuse.

Coxalflüssigkeit von n-Zecken	Zecken infiziert im:	Infektionsalter der Zecken (in Tagen)	Befund der Mäuse nach Tagen	
15	2. Nymphenstadium	9	+	5
5		11	—	
9		19	—	
12		26	+	5
4		39	—	
4		74	—	
5	3. Nymphenstadium	74	+	5
12		74	—	
3		92	—	
5		92	—	
10		92	—	
5	4. Nymphenstadium	102	—	
5		106	—	
2		118	—	
5	4. Nymphenstadium	139	—	
10		139	—	
7		153	—	
5		169	—	
10		178	—	
8	5. Nymphenstadium	209	—	
4		236	—	
9		236	+	7
15	4. Nymphenstadium	239	+	5
10		264	—	
5		284	—	
8		284	—	
5		339	—	
10	adult	454	—	
5		501	—	
8		556	—	

und auf eine Glasunterlage gebracht. Die bald darauf austretende Coxalflüssigkeit wurde mittels Kapillaren aufgesogen und sofort auf die 3 Tage vorher geschorene Bauchhaut gesunder Mäuse geträufelt.

Von den 30 durchgeführten Versuchen, bei welchen jeweils die Coxalflüssigkeit von 2—15 Zecken Verwendung fand, verliefen nur 5 Versuche positiv (vgl. Tabelle 24). Dies beweist wohl, daß auch die mit der Coxalflüssigkeit ausgeschiedenen Spirochaeten fähig



Der Spirochaeteninfektionsverlauf in der Zecke *Ornithodoros moubata*.

Abb. 20 A. Zeckenweibchen infiziert sich während eines Saugaktes. Die mehrheitlich in Teilung begriffenen Spirochaeten gelangen via Pharynx (Ph) und Oesophag (Oe) in den Mitteldarm (MD) bzw. Magensack. Ph = Pharynx, Oe = Oesophag, MD = Mitteldarm (Magensack), Mp = Malpighisches Gefäß, R = Rectalampulle, Ov = Ovar, Od = Ovidukt, U = Uterus, Sp = Speicheldrüse, Co = Coxalorgan (aus Filterorgan [Fi] und akzessorischer Drüse [Dr] bestehend) Ce = Centralganglion.

Abb. 20 B. 4 Tage nach erfolgter Nahrungsaufnahme. In der eigentlichen Darmfüllung sind schon weniger Erreger zu beobachten, dafür können an und in der Darmwand sehr viele Spirochaeten festgestellt werden. Vereinzelte Formen haben die Darmschichten schon durchbohrt und sind in die Haemolymphe eingedrungen.

C



D

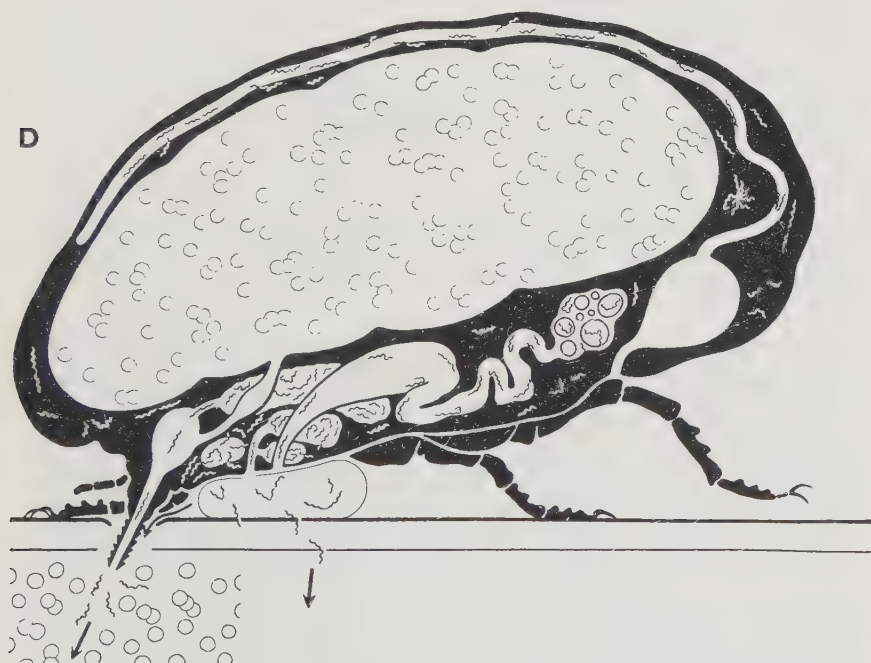


Abb. 20 C. Starke Erregerzunahme in der Körperflüssigkeit; einerseits auf die Teilungen, andererseits auf fortwährendes Freiwerden neuer Spirochaeten aus der Darmwand zurückzuführen. Auftreten der charakteristischen Knäuelbildungen.

Abb. 20 D. Infizierter *Ornithodoros* beim Saugakt. Alle Organe, so die Speicheldrüsen, die Coxalorgane, das Centralganglion, der weibliche Genitalapparat, die Eier, die Wandungen der Malpighischen Gefäße (nicht aber deren Gefäßlumen) weisen einen starken Spirochaetenbefall auf. Die Uebertragung des Rückfallfiebers erfolgt: 1. Durch den Biß via Speicheldrüsensekret. 2. Durch das Eindringen infektiöser Coxalflüssigkeit in die Wunde. 3. Durch das Eindringen aktiver Spirochaeten aus der Coxalflüssigkeit in das Hautgewebe.

sind, durch die unverletzte Haut hindurch den Warmblüter zu infizieren; es bestätigt aber auch deutlich die Beobachtung, wonach die meisten Zecken mit ihrer Coxalflüssigkeit mehrheitlich wenig aktive oder überhaupt abgestorbene Erreger ausstoßen.

Die Infektion kommt wahrscheinlich nur dann zustande, wenn eine genügende Menge aktiver Spirochaeten ausgeschieden wird. Der percutanen Uebertragungsmöglichkeit kommt jedoch, da der für eine Infektion nötige Schwellenwert ausgeschiedener Spirochaeten im allgemeinen nicht erreicht wird, nur eine sekundäre Bedeutung zu (vgl. Seite 245).

Die in den beiden letzten Kapiteln gefundenen Ergebnisse überblickend, läßt sich feststellen, daß *Ornithodoros moubata* das Rückfallfieber auf folgende Weise übertragen kann:

1. Zecken im 1. bis 6. Nymphenstadium.

a) durch *direkte Injektion spirochaetenhaltigen Speichels* während der Nahrungsaufnahme

b) durch das *Ausscheiden infizierter Coxalflüssigkeit*, wobei die aktiven Spirochaeten nicht nur durch die Bißwunde, sondern auch durch die Hautoberfläche eindringen können.

2. Zecken im Adultstadium.

a) durch das *Ausscheiden infizierter Coxalflüssigkeit* (wie 1 b)

b) durch *direkte Injektion spirochaetenhaltigen Speichels* (wie 1 a; seltener).

Ein Vergleich der hier erzielten Resultate mit den Befunden anderer Autoren (vgl. Kapitel I, 4 b) ergibt nur teilweise eine Uebereinstimmung. So sind LEISHMAN (1907—1920), FANTHAM (1911), TODD (1913), ZUELZER (1920), KLEINE & KRAUSE (1932) und FENG & CHUNG (1939) der Meinung, die Uebertragung des Rückfallfiebers erfolge vorwiegend (LEISHMAN, FANTHAM, KLEINE & KRAUSE, FENG & CHUNG) oder ausschließlich (TODD, ZUELZER) durch die Coxalflüssigkeit. Die jüngste Arbeit, in der dieses Problem eingehend studiert worden ist, liegt von BONÉ (1939 c) vor. Nach ihm werden die Spirochaeten ebenfalls nur durch die in die Wunde eindringende infektiöse Coxalflüssigkeit übertragen. Diese Ansicht konnte durch die eigenen Versuchsergebnisse teils widerlegt und berichtigt werden.

IV. ZUSAMMENFASSUNG.

Nach einer eingehenden Schilderung der Anatomie von *Ornithodoros moubata* wird erneut die Frage nach dem Schicksal und Verhalten der afrikanischen Rückfallfieberspirochaete *Borrelia duttonii* in der Zecke bis zur Uebertragung auf den Warmblüter erörtert. Die dabei gefundenen Resultate lassen sich an Hand der Abb. 20 A—D wie folgt zusammenfassen.

1. Saugt eine Zecke an erkranktem Menschen oder Tier (vgl. Abb. 20 A), so gelangen die Spirochaeten mit dem Blut via Pharynx (Ph) und Oesophag (Oe) in den Mitteldarm (MD) bzw. Magensack, in dessen Lumen sie während 16 Tagen in stets abnehmender Zahl nachzuweisen sind. Schon wenige Stunden nach erfolgter Nahrungsaufnahme beginnen sich die Erreger peripher an der Darmwand zu lokalisieren, befallen deren Epithelzellen und bohren sich durch die Darmschichten hindurch, um frühestens nach 24 Stunden in die Körperflüssigkeit einzudringen (vgl. Abb. 20 B).

Weder in der Darmfüllung noch in der Darmwand werden die von DUTTON & TODD, LEISHMAN und anderen Autoren beschriebenen Entwicklungszyklen von *Borrelia duttonii* beobachtet. Wohl treten schon von Infektionsbeginn an in der Darmfüllung erst vereinzelte, später in vermehrtem Maße, unbewegliche, degenerierte Spirochaeten auf; es handelt sich jedoch dabei um entwicklungsunfähige abgestorbene Erregerformen, die mit Evolutionsstadien nichts zu tun haben.

2. In der Haemolympe findet kurz nach dem ersten Erregernachweis im allgemeinen eine starke Spirochaetenvermehrung statt, deren Intensität und zeitliches Auftreten jedoch von Zecke zu Zecke verschieden sein kann. Diese Erregerzunahme ist einerseits auf Teilungen der bereits in der Körperflüssigkeit befindlichen Formen, andererseits auf das ständige Freiwerden neuer Spirochaeten aus der Darmwand zurückzuführen.

3. Von der Haemolympe aus dringen die Recurrenserreger in die verschiedenen Zeckenorgane ein und sind in den Speicheldrüsen (Sp), im Coxalorgan (Co) wie auch im Centralganglion (Ce) frühestens am 3., in den Malpighischen Gefäßen (Mp) am 4. Tage nachzuweisen (vgl. Abb. 20 C). Das Lumen der letztgenannten Organe wie auch die analen Zeckenausscheidungen bleiben stets spirochaetenfrei. Die Centralganglien, die Coxalorgane und Malpighischen Gefäße stellen bei Nymphen wie auch bei Adultzecken Zentren dar,

in welchen sich die Spirochaeten immer wieder durch einfache wie auch multiple Querteilungen vermehren.

Gegenüber den Speicheldrüsen weist *Borrelia duttonii* ein unterschiedliches Verhalten auf, indem nur diejenigen der Jungzecken einen starken, langandauernden Befall zu verzeichnen haben. Die Drüsen der geschlechtsreifen Adulttiere hingegen werden nur vorübergehend schwer befallen und bleiben im allgemeinen schwach infiziert. Weder in den genannten Organen noch in den unreifen oder reifen Eiern von *Ornithodoros moubata* kann das von LEISHMAN und anderen geschilderte Vorkommen von «Granulae» bestätigt werden.

4. Das Verhalten von *Borrelia duttonii* gegenüber einzelnen Zeckenorganen wird auch experimentell mit dem sog. Glaskapillarentest untersucht, indem infizierten Adultzecken auf operativem Wege Kapillaren eingeführt werden, in welchen sich Isolate von uninfizierten Speicheldrüsen, Centralganglien und Coxalorganen befinden. Es zeigt sich, daß bei Jungzecken alle diese Organe, bei Adulttieren hingegen nur die Ganglien und Coxalorgane, von den Spirochaeten befallen werden. Auf Grund dieser Resultate wird vermutet, daß von noch unbekannten Stoffen einzelner Organe eine attraktive Wirkung auf die in der Haemolympe befindlichen Spirochaeten ausgehe. Von solchen Stoffen, die vor allem in den Centralganglien und Coxalorganen reichlich vorhanden sein müssen, hängt die Ansiedlung und vielleicht auch die Vermehrung der Erreger weitgehend ab. Das negative Verhalten der Spirochaeten gegenüber den Speicheldrüsen der Adultzecken sowie gegenüber anderen Zeckengeweben wäre damit zu erklären, daß die erwähnten Stoffe dort nur spärlich oder überhaupt nicht vorkommen.

5. Im Hinblick auf die bestehenden Entwicklungstheorien von *Borrelia duttonii* bei Temperaturen unter 25 Grad C wird auch der Infektionsverlauf in der Zecke bei ca. 20 Grad C verfolgt. Diese niedere Temperatur hat lediglich eine Inaktivierung der Spirochaeten und dadurch einen verlangsamten Ablauf der Infektion zur Folge. So können z. B. in der Darmfüllung noch nach 35 Tagen lebende Spirochaeten festgestellt werden; in den Organen gelingt der Erregernachweis erst vom 13. Infektionstage an. Ein Zerfall der Spirochaeten in «Granulae» ist auch hier nicht zu beobachten.

6. Im weiteren werden die verschiedenen Uebertragungsmöglichkeiten von *Ornithodoros moubata* auf den Warmblüter untersucht. Im Gegensatz zu den Befunden anderer Autoren kann gezeigt werden, daß die Uebertragung des Rückfallfiebers sowohl durch

den Zeckenbiß allein als auch durch die Abgabe infektiöser Coxalflüssigkeit erfolgen kann (vgl. Abb. 20 D), und zwar übertragen

1. Zeckennymphen

a) durch den Biß, wobei die Spirochaeten mit dem Speichel direkt in die Wunde injiziert werden.

b) durch die *Coxalflüssigkeit*, wobei die Erreger in die Bißwunde geschwemmt werden oder durch die unverletzte Haut eindringen können.

2. Adultzecken

a) durch die *Coxalflüssigkeit* (wie oben)

b) durch den Biß via Speicheldrüsensekret (selten).

Literaturverzeichnis.

- Boné, G. (1938 a). Mode de transmission du spirochète de Dutton par les *Ornithodores moubata*. — C. R. Soc. Biol., vol. 129, p. 901-903.
- Boné, G. (1938 b). L'infection des *Ornithodores moubata* par le spirochète de Dutton. — C. R. Soc. Biol., vol. 129, p. 903-905.
- Boné, G. (1939 a). L'excrétion des spirochètes de Dutton chez *Ornithodoros moubata*. — C. R. Soc. Biol., vol. 130, p. 84-85.
- Boné, G. (1939 b). La transmission héréditaire du spirochète de Dutton chez *Ornithodoros moubata*. — C. R. Soc. Biol., vol. 130, p. 86-87.
- Boné, G. (1939 c). Contribution à l'étude de la transmission de la fièvre récurrente tropicale (premier mémoire). — Ann. Soc. belge Méd. trop., t. XIX, N° 3, 56 pp.
- Boné, G. (1943). Recherches sur les glandes coxales et la régulation du milieu interne chez l'*Ornithodoros moubata*, Murray. — Ann. Soc. Roy. Zool. de Belgique, t. LXXIV, p. 16-31.
- Buchner, P. (1951). Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. — Basel: Verlag Birkhäuser (im Druck).
- Cooley, R. A., & G. M. Kohls (1944). The argasidae of North America, Central America and Cuba. — University Press, Notre Dame, Ind., 152 pp.
- Dutton, J. E., & J. L. Todd (1905). The nature of tick fever in the eastern part of the Congo Free State. — Brit. Med. J., vol. 2, p. 1259-1260.
- Dutton, J. E., & J. L. Todd (1907). A note on the morphology of *Spirochaeta duttoni*. — Lancet, vol. 2, p. 1523-1525.
- Fantham, H. B. (1911). Some researches on the life-cycle of *Spirochaetes*. — Ann. Trop. Med. & Parasitol., vol. 5, p. 479-496.
- Fantham, H. B. (1914). The granule phase of *Spirochaetes*. — Ann. Trop. Med. & Parasitol., vol. 8, p. 471-484.
- Fantham, H. B. (1916). *Spirochaetes* and their granular phase. — Brit. Med. J. p. 409-411.
- Feng, L. C., & H. L. Chung (1936). Studies on the Development of *Spirochaeta duttoni* in *Ornithodoros moubata*. — Chinese Med. J. vol. 50, p. 1185-1190.
- Feng, L. C., & H. L. Chung (1938). The effect of temperature on the development of *Spirochaeta duttoni* in *Ornithodoros moubata*. — Chinese Med. J. Suppl. No. 2, p. 555-562.

- Feng, L. C., & H. L. Chung (1939). The transmission of *Spirochaeta duttoni* by *Ornithodoros moubata*. — Acta Conventus Tertii Tropicis atque Malariae morbis, pars I, p. 438-443.
- Geigy, R., & W. Burgdorfer (1949). Versuche zur Uebertragung von *Spirochaeta duttoni* durch *Ornithodoros moubata*. — Rev. Suisse Zool., t. 56, No. 20, p. 334.
- Geigy, R., & W. Burgdorfer (1951). Unterschiedliches Verhalten verschiedener Stämme von *Spirochaeta duttoni* in der weißen Maus. — Acta Tropica, vol. 8, No. 2, p. 151—154.
- Hampp, E. G., D. B. Scott, & R. W. G. Wyckoff (1948). Morphologic Characteristics of certain cultured strains of oral spirochetes and *Treponema pallidum* as revealed by the electron microscope. — J. Bacteriol., vol. 56, p. 755-769.
- Hatt, P. (1929). Observations sur l'évolution des spirochètes des fièvres récurrentes chez les Ornithodores. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, vol. 18, p. 258-264.
- Hindle, E. (1911 a). The transmission of *Spirochaeta duttoni*. — Parasitology, vol. 4, p. 133-149.
- Hindle, E. (1911 b). On the life-cycle of *Spirochaeta gallinarum*. — Parasitology, vol. 4, p. 463-477.
- Kleine, F. K., & B. Eckard (1913). Ueber die Lokalisation der Spirochaeten in der Rückfallfieberzecke (*O. moubata*). — Z. Hyg. u. Inf.krankh., vol. 74, p. 389-394.
- Kleine, F. K., & M. Krause (1932 a). Zur Kritik angeblicher Entwicklungsformen von Rückfallfieberspirochaeten in der Zecke (*Ornithodoros moubata*). — Arch. Schiffs- u. Trop. Hyg., vol. 36, p. 190-191.
- Kleine, F. K., & M. Krause (1932 b). Zur Uebertragung der Rückfallfieberspirochaete durch Zecken. — Arch. Schiffs- u. Trop. Hyg., vol. 36, p. 587-589.
- Koch, R. (1905). Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. — Deutsche med. Wschr., vol. 47, p. 1866.
- Koch, R. (1906). Ueber afrikanischer Recurrens. — Berliner klin. Wschr., vol. 43, p. 185-194.
- Künßberg, K. von (1911). Eine Antikoagulindrüse bei Zecken. — Zool. Anzeiger, No. 38, p. 263-268.
- Lees, A. D. (1946). Chloride Regulation and the Function of the Coxal glands in Ticks. — Parasitology, vol. 37, p. 172-184.
- Lees, A. D., & J. W. L. Beament (1948). An egg-waxing organ in ticks. — Quart. J. Microscop. Sci., vol. 89, p. 291-333.
- Leishman, W. (1907). Spirochaetae of Relapsing Fever and Tick Fever. — Lancet, p. 806.
- Leishman, W. (1910). The mechanism of infection in tick fever and on the hereditary transmission of *Spirochaeta duttoni* in the tick. — Lancet, p. 11.
- Leishman, W. (1918). Note on "granuleclumps" found in *Ornithodoros moubata* and their relation to spirochaetes of African relapsing fever (tick fever). — Ann. Inst. Pasteur, vol. 32, p. 49-59.
- Leishman, W. (1920). *Spirochaeta duttoni*, the parasite of tick fever. — Lancet, p. 1237-1244.
- Lüscher, M. (1948). Gewebekultur «in vivo» bei *Rhodnius prolixus*. — Rev. Suisse Zool., t. 55, No. 7, p. 227-232.
- Nicolle, Ch., Ch. Anderson & J. Colas-Belcour (1930). Recherches expérimentales poursuivies à l'Institut Pasteur de Tunis, sur les conditions de la transmission des spirochètes récurrents par les Ornithodores. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, t. 19, p. 133-227.

- Nicollé, Ch., & Ch. Anderson (1930). Sur le mécanisme de la transmission des spirochètes récurrents par les Ornithodores. — 1^{er} Congrès Internat. Microbiol., Paris.
- Patton, W. S., & A. M. Evans (1931). Insects, Ticks, Mites and Venomous Animals of Medical and Veterinary importance. — Croydon: H. R. Grubb, Ltd.
- Remy, P. (1922). Sur le rejet de sang chez les Argasidae. — Arch. Zool. Exp. vol. 61, p. 1-16.
- Schuberg & Manteufel (1910). Ueber erworbene Immunität gegen Recurrens bei Ornithodoros moubata. — Z. f. Immunit.forsch., vol. 4, p. 512-515.
- Todd, J. L. (1913). A Note on the Transmission of Spirochaetosis. — Proc. Soc. Exp. Biol., vol. 10, p. 134.
- Wittrock, O. (1913). Beitrag zur Biologie der Spirochaeta des Rückfallfiebers. — Z. f. Hyg., vol. 74, p. 55-60.
- Zuelzer, M. (1920). Biologische Untersuchungen an Zecken. — Z. f. Immunit.forsch., vol. 30, p. 183-201

Summary.

After a detailed description of the anatomy of *Ornithodoros moubata*, the presence and behaviour of the agent of African relapsing fever, *Borrelia duttonii*, in the tick is discussed, as far as its transmission to warm-blooded animals. The results obtained are summarised in tables 20 A-D as follows:

1. If a tick sucks the blood of an infected man or animal (see fig. 20 A), the spirochaetes are carried with the absorbed blood via the pharynx (Ph) and oesophagus (Oe) into the middle intestine (MD), e.g., stomach, in the cavity of which they are found in continually decreasing numbers during 16 days. A few hours after the tick's feeding the agents already begin to gather on the periphery of the gut wall, attacking its epithelium cells and boring through the strata of the gut wall. At the earliest after 24 hours they penetrate the body cavity fluid (see fig. 20 B).

The development cycles (granulae) of *Borrelia duttonii* described by Dutton & Todd, Leishman and other authors cannot be seen either in the gut contents or in the gut wall. From the beginning of infection there are certainly, in the contents of the gut, a few and later more and more immobile, degenerated spirochaetes, but these are dead forms, incapable of developing and which have nothing to do with development stages.

2. In the haemolymph, shortly after the first arrival of the agents, a considerable multiplication of spirochaetes generally takes place. Their number and the time of occurrence varies, however, from tick to tick. This multiplication of the agents is due on one hand to division of the forms already in the body fluid; on the other hand to the continual liberation of fresh spirochaetes from the gut wall.

3. From the haemolymph the agents of relapsing fever infiltrate the various organs of the tick and their presence is proved at the earliest on the third day in the salivary glands (Sp), in the coxal organs (Co) and also in the central ganglion (Ce); in the Malpighian tubes on the fourth day (see fig. 20 C). The cavity of the last named organs and also the anal excretions of the tick remain constantly without spirochaetes. The central ganglions, the coxal organs and the Malpighian tubes in the nymph as well as in the adult tick are centres in which the spirochaetes multiply by simple and by multiple transverse division. *Borrelia duttonii* behave differently in the salivary glands: only the glands of nymphs show a strong permanent infection. The glands of the adult tick, how-

ever, are only strongly infiltrated temporarily and remain usually only slightly infected. Neither in the above mentioned organs nor in the immature or mature eggs of *Ornithodoros moubata* can be confirmed the presence of "granulae" described by *Leishman* and others.

4. The behaviour of *Borrelia duttonii* towards certain tick organs is also examined experimentally with the so-called "glass capillary test". These capillaries, containing fragments of uninfected salivary glands, central ganglions and coxal organs, are introduced surgically into infected ticks. It can be shown that in nymphal ticks all these organs, in adult ticks only the central ganglions and the coxal organs are attacked by the spirochaetes. From these results it is deduced that still unknown substances of certain organs might exert an attraction on the spirochaetes in the haemolymph. On such substances, in which the central ganglion and the coxal organs must be particularly rich, depends the infiltration and perhaps also the multiplication of the agents. The negative behaviour towards the salivary glands of adult ticks as also towards other tick tissues would be explained by the fact that these substances are only scantily present or altogether absent.

5. With regard to the existing development theories of *Borrelia duttonii* at temperatures below 25° C., the infection course in the tick at a temperature of 20° C. has been investigated. This low temperature merely reduces the activity of the spirochaetes and thereby slows down the infection. In the contents of the stomach for example living spirochaetes can be found even after 35 days. In the tick organs the presence of the agents can be first detected on the 13th day after infection. A fragmentation of the spirochaetes into "granulae" was not found.

6. The various possibilities of the transmission of *Ornithodoros moubata* to warm-blooded animals have been examined next. In contrast to the results of other investigators it is shown that the transmission of the relapsing fever can be made by the tick bite alone as well as by the secretion of infectious coxal fluid (see fig. 20 D).

Transmission is possible by:

1. *nymphal ticks*

- a) by the bite, injecting the spirochaetes directly into the wound with the saliva;
- b) by the coxal fluid, the agents being washed into the bite wound or penetrating the unwounded skin;

2. *adult ticks*

- a) by the coxal fluid (as 1 b);
- b) by the bite via saliva (rarely).

Résumé.

Après une description détaillée de l'anatomie d'*Ornithodoros moubata*, l'auteur étudie le développement et le comportement de l'agent pathogène de la fièvre récurrente, *Borrelia duttonii*, dans la tique, jusqu'à sa transmission sur l'animal à sang chaud. Les résultats obtenus, montrés dans les figs. 20 A-D, se résument comme suit :

1° Lorsqu'une tique se gorge sur un homme ou un animal infectés (voir fig. 20 A), les spirochètes passent avec le sang absorbé par le pharynx (Ph) et l'œsophage (Oe), pour arriver dans l'intestin moyen (MD) ou « estomac », où ils peuvent être observés pendant 16 jours en nombre continuellement décroissant. Peu d'heures après le repas sanguin, l'agent pathogène commence à se

localiser du côté de l'épithélium intestinal ; il attaque les cellules de celui-ci et pénètre à travers la paroi intestinale jusque dans l'hémolymphe qu'il atteint après 24 heures au plus tôt (voir fig. 20 B).

Les cycles évolutifs de *Borrelia duttonii* (formation de « granules »), décrits par Dutton & Todd, Leishman, et autres, ne peuvent être observés ni dans la cavité ni dans la paroi intestinales. Dès le commencement de l'infection, on trouve dans le lumen de l'intestin, d'abord isolés, plus tard en nombre croissant, des spirochètes immobiles et en voie de dégénérescence ; il s'agit là cependant d'agents morts, incapables de se développer plus loin et qui ne représentent certainement pas des formes évolutives.

2° Peu après leur arrivée dans l'hémolymphe les spirochètes se divisent en général fortement ; le début et l'intensité de leur multiplication varient cependant de tique à tique. L'augmentation du nombre des spirochètes est causée d'une part par les divisions de ceux qui se trouvent déjà dans l'hémolymphe, d'autre part par de nouveaux spirochètes étant continuellement libérés du côté de la paroi intestinale.

3° L'agent pathogène pénètre à partir de l'hémolymphe dans les différents organes de la tique. Sa présence s'observe le 3^e jour au plus tôt dans les glandes salivaires (Sp), dans l'organe coxal (Co) et dans le ganglion central (Ce), à partir du 4^e jour dans les tubes de Malpighi (Mp) (voir fig. 20 C). Ni le lumen de ceux-ci ni les excréments anales de la tique ne contiennent des spirochètes. Le ganglion, l'organe coxal et les tubes de Malpighi des nymphes ainsi que des tiques adultes forment des centres, dans lesquels les spirochètes continuent à se multiplier par division simple ou multiple.

Borrelia duttonii se comporte différemment vis-à-vis des glandes salivaires ; seules celles des nymphes présentent une infiltration intense et persistante. Les glandes salivaires des tiques adultes par contre ne sont envahies que temporairement et leur degré d'infection reste en général faible. La présence des « granules » décrites par Leishman et d'autres ne peut être confirmée ni dans les organes mentionnés ni dans les ovules et les œufs mûrs d'*Ornithodoros moubata*.

4° Le comportement de *Borrelia duttonii* vis-à-vis de certains organes de la tique a été examiné aussi expérimentalement par une nouvelle méthode se servant de tubes capillaires (Kapillarentest). Ces tubes, contenant des fragments non infectés de glandes salivaires, de ganglions et d'organes coxals, sont introduits dans des tiques infectées. On observe alors que les spirochètes envahissent les trois organes mentionnés des nymphes, alors qu'ils ne pénètrent que dans le ganglion et dans l'organe coxal des adultes.

Ces résultats permettent de supposer que des substances encore inconnues, contenues dans certains organes, exercent une attraction sur les spirochètes qui se trouvent dans l'hémolymphe. De telles substances, abondantes surtout dans les ganglions et dans l'organe coxal, influencent considérablement l'infiltration et peut-être aussi la multiplication de l'agent pathogène. Le comportement plutôt négatif de celui-ci vis-à-vis des glandes salivaires des tiques adultes s'expliquerait par le fait que ces substances n'y sont pas du tout ou seulement faiblement représentées.

5° Vu les théories émises sur l'évolution de *Borrelia duttonii* à une température de moins de 25° C., le cours de l'infection dans la tique a été étudié à une température d'environ 20° C. Cette température basse n'a pour effet qu'une réduction de l'activité des spirochètes et par conséquent un ralentissement du cours de l'infection. Ainsi on observe, dans la cavité de l'intestin, des spirochètes vivants encore 35 jours après l'infection ; dans les organes l'agent patho-

gène ne peut être découvert qu'à partir du 13^e jour. Ici encore une décomposition en « granules » ne peut être observée.

6^o On a examiné enfin les différents modes de transmission de l'*Ornithodoros moubata* sur les animaux à sang chaud. En opposition aux résultats obtenus par d'autres auteurs, il a été possible de prouver que la transmission des spirochètes peut avoir lieu soit par la piqûre seule, soit par une sécrétion de liquide coxal infectieux (voir fig. 20 D).

La fièvre récurrente peut être transmise par :

1^o la nymphe

- a) par piqûre avec injection de spirochètes directement dans la plaie avec la salive ;
- b) par le liquide coxal infecté. Les spirochètes peuvent alors s'infiltrer par le canal de la piqûre inondé de liquide coxal, mais ils peuvent aussi pénétrer directement à travers la peau intacte.

2^o la tique adulte

- a) par le liquide coxal (comme 1 b) ;
- b) par la salive injectée lors de la piqûre (rarement).

Curriculum vitae.

Ich, Willy Burgdorfer, wurde am 27. Juni 1925 als Sohn des Detektiv-Kpl. Karl Burgdorfer und seiner Gattin Elsa, geb. Hafner, in Basel geboren.

In Kleinhüningen besuchte ich die 4 obligatorischen Primarschuljahre und trat 1936 in das Realgymnasium Basel ein, wo ich 1944 die Maturitätsprüfung bestand. Im Frühjahr 1944 immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel und besuchte die Vorlesungen und Praktika folgender Herren Professoren und Dozenten:

Erlenmeyer, Geiger-Huber, Geigy, Handschin, Hediger, Huber, Jaeger, Mislin, Mohler, Portmann, Reichstein, Schüepp, Senn, Tomcsik, Verzár, Vonderschmitt, Vosseler und Vischer.

Da mein Interesse vor allem dem medizinisch-entomologischen sowie bakteriologischen Studium galt, besuchte ich gleichzeitig bei folgenden Herren Professoren und Dozenten Vorlesungen und Kurse am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel: Baer, Berger, Frei, Geigy, Hediger, Mooser, Tomcsik und Zeller.

Vom Juni 1949 bis Juni 1950 war ich wissenschaftlicher Mitarbeiter der Bibliothek des Schweizerischen Tropeninstitutes in Basel.

Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Prof. Dr. R. Geigy.

